

GEMMA GUILLAZO I BLANCH

**EFFECTES DE L'ESTIMULACIÓ I DE  
LA LESIÓ DEL NUCLI  
PARAFASCICULAR DEL TÀLEM  
SOBRE UN CONDICIONAMENT  
D'EVITACIÓ ACTIVA DE DOS  
SENTITS, EN RATES**

Tesi Doctoral co-dirigida per: Dra. Margarita Martí Nicolovius  
Dr. Ignacio Morgado Bernal

*Margarita Martí*

*Ignacio Morgado Bernal*

Departament de Psicologia de la Salut  
Facultat de Psicologia  
Universitat Autònoma de Barcelona  
Bellaterra (Barcelona), 1993

### **3.2. SISTEMA GENERAL D'APRENTATGE I MEMÒRIA**

En la dècada dels 50, l'aparició dels treballs i de les teories de Penfield va suposar un canvi en la concepció clàssica i tradicional de l'origen exclusivament cortical de les funcions cognitives. Penfield (1954) va proposar certes estructures subcorticals com a necessàries per al bon funcionament de les funcions classificades com a "superiors", com per exemple, la consciència de l'experiència sensorial, el processament i la consolidació de la informació retinguda, la realització de tasques de resolució de problemes, la planificació de l'acció... etc. En concret Penfield en la seva teoria centrencefàlica (centrencephalic theory) postula l'existència d'un conjunt de vies i nuclis situats per sobre del tronc de l'encèfal que coordinarien i integrarien l'activitat dels hemisferis. A la vegada aquests nuclis els va classificar en dos subsistemes:

- 1) La part essencial o "core", compost per tres sistemes funcionals:
  - Els mecanismes cerebrals superiors (highest brain mechanisms)
  - El mecanisme sensomotor automàtic (automatic sensoriomotor mechanism)
  - El mecanisme del record (record of experience)
- 2) Les vies que connecten la part essencial o "core" amb la resta de components del SNC.

Penfield, a més, va ser el primer a establir una teoria basada en l'existència d'un sistema central, inespecífic, que coordinaria les activitats de les regions corticals i subcorticals especialitzades en els diferents tipus de mecanismes de l'aprenentatge i de la memòria. Més recentment, en base a aquestes teories de Penfield, Thompson i Yu (1987) van suggerir una hipòtesi d'organització funcional del cervell segons la qual els mecanismes subcorticals podrien prendre prioritat sobre els corticals en la integració final de la conducta. A partir d'un extens treball experimental, consistent en estudiar les

conseqüències sobre l'aprenentatge i la memòria de diferents lesions subcorticals, van proposar l'existència, en el cervell de la rata, d'un sistema neurofisiològic general implicat en la memòria, parcialment diferent d'un altre sistema, també general, que estaria implicat en l'aprenentatge. Segons Thompson i Yu (1987), ni l'aprenentatge ni la memòria són fenòmens unitaris i per tant, el substrat neural d'una classe determinada d'aprenentatge o de memòria no té perquè tenir res en comú amb el d'un altre tipus de resposta apresada; però, en canvi, l'execució de la major part de tasques de condicionament requereix de l'activació d'aquells sistemes subcorticals que possibiliten activitats com el control motor, l'arousal o l'atenció selectiva. Van hipotetitzar que hi hauria un mecanisme específic per a cada tipus d'aprenentatge o memòria, i un altre d'inespecífic o comú a totes les formes d'aprenentatge i memòria, de forma que l'activació d'un o més mecanismes específics possiblement requerirà de l'acció d'algun altre mecanisme inespecífic. Per tant, l'organització funcional del substrat de l'aprenentatge i de la memòria podria consistir en una doble organització neuroanatòmica que implicaria uns sistemes específics versus altres d'inespecífics, aquests darrers principalment d'origen subcortical. Els sistemes cerebrals inespecífics o d'integració estarien formats per aquelles estructures cerebrals implicades en l'aprenentatge i retenció d'una gran diversitat de tasques conductuals. Concretament, aquelles estructures cerebrals implicades en l'aprenentatge però que no semblen tenir un paper crític en un aprenentatge determinat, es consideren integrants del "*sistema general d'aprenentatge*". Seguint el mateix criteri, però en relació a la memòria, també proposen l'existència d'un "*sistema general de memòria*". Hi hauria estructures cerebrals que podrien formar part d'un o altre sistema, o bé de tots dos. En concret, i fent referència al nucli parafascicular del tàlem, podem observar com els autors el consideren com a integrant dels dos sistemes generals, tant del de memòria com del de l'aprenentatge (vegeu taula 3.2,1).

| REGIO CEREBRAL                   | ESTRUCTURA CEREBRAL                    | SGA | SGM |
|----------------------------------|--|-----|-----|
| GANGLIS BASALS                   | caudat-putamen                         | si  | ?   |
|                                  | globus pàl.lid                         | si  | si  |
|                                  | n.entopeduncular                       | si  | -   |
|                                  | subtàlem                               | si  | -   |
|                                  | substància negra                       | si  | si  |
|                                  | n.vermell                              | si  | -   |
| ÀREES LÍMBIQUES MESENCEFÀLIQUES  | àrea tegmental ventral                 | si  | ?   |
|                                  | àrea tegmental central-interpeduncular | si  | ?   |
|                                  | n.medial del rafe                      | si  | si  |
| SISTEMA DE LA FORMACIO RETICULAR | preectum                               | si  | -   |
|                                  | n.talàmics posteriors                  | si  | -   |
|                                  | parafascicular                         | si  | si  |
|                                  | hipotàlem lateral                      | si  | si  |
|                                  | FRM                                    | si  | -   |
|                                  | FR pontina                             | si  | si  |
| ALTRES                           | tàlem ventrolateral                    | -   | si  |

Taula 3.2,1: Estructures cerebrals del cervell de la rata proposades per Thompson i Yu (1987) com a integrants del sistema general d'aprenentatge (SGA), del sistema general de memòria (SGM), o dels dos sistemes.

Recentment Thompson, Crinella i Yu (1990), han tornar a revisar totes les seves teories i han inferit noves hipòtesis en funció d'un cos de treball experimental molt extens, que engloba resultats de noves investigacions. El seu treball experimental es basa principalment en l'estudi dels efectes de lesions de 50 estructures cerebrals sobre diferents tipus d'aprenentatges, o com els mateixos autors anomenen, sobre diferents tasques de resolució de problemes. D'entrada, s'observa que una lesió en qualsevol nucli cerebral es reflecteix en un dèficit de l'aprenentatge en, com a mínim, un tipus de tasca. Aquesta conclusió està basada en la descoberta que, després d'haver lesionat 50 estructures cerebrals diferents, només n'hi ha dos que no comporten un dèficit en alguna de les tasques de resolució de problemes objecte d'estudi en la citada investigació, i aquests nuclis són el nucli accumbens i l'àrea mesencefàlica lateral. També demostren que dèficits en l'aprenentatge ocasionats com a conseqüència de lesions del còrtex frontal, parietal o bé occipitotemporal són reproduïbles amb discretes lesions subcorticals. Aquests

fets augmenten la importància de les connexions corticosubcorticals i subcorticocorticals en l'aprenentatge, i suposen un fort suport a la hipòtesi que, tal com ja havia apuntat Penfield (1954), les funcions mentals complexes no són un producte exclusiu de la interrelació entre varies àrees neocorticals. De l'estudi dels dèficits associats a les diferents lesions conclouen que la involucració de certes àrees cerebrals en l'aprenentatge pot ser més complexa i difusa del que fins ara s'havia conceptualitzat. Així per exemple, es típic trobar en els llibres de psicologia fisiològica la relació entre el còrtex occipitotemporal, l'àrea pretectal, i els col·lícles superiors amb l'aprenentatge visual; cerebel, globus pallidus i nucli vermell amb aprenentatges motors, i còrtex cingulat, amígdala i rafe medial només en relació amb aprenentatges d'evitació condicionada. Malgrat això, Thompson, Crinella i Yu (1990) demostren que síndromes originades a partir de les lesions d'aquestes àrees afecten a tasques de resolució de problemes aparentment no lligades amb l'aprenentatge motor, visual o el d'evitació condicionada. Una possible explicació d'aquesta difusa complexitat de molts dels dèficits està en el fet que moltes d'aquestes estructures són heterogènies tant pel que fa a les seves aferències com eferències. Un altre resultat que també cal destacar d'aquest treball, és el fet que les lesions de l'estriat dorsal, del globus pallidus, del tàlem ventrolateral, de la substància negra, de l'àrea tegmental ventral, dels col·lícles superiors, del nucli medial del rafe i de la formació reticular pontina, van associades amb dèficits d'aprenentatge en totes les tasques que componen la bateria de tests. D'aquí dedueixen que aquest conjunt d'estructures podria jugar un paper inespecífic en l'aprenentatge. A més, també indiquen que la lesió de l'àrea límbica mesencefàlica, l'hipotàlem, el tàlem, i els ganglis basals comporta el grau més alt de dèficits en les tasques de resolució de problemes complexos, mentre que la lesió del còrtex cerebral i del prosencèfal límbic correlaciona amb un grau més baix de dèficit. De tot això conclouen la importància de les estructures troncocefàliques en l'adquisició de respostes adaptatives; però també interpreten que la lesió de certes àrees troncocefàliques podria abolir els efectes "energitzants" d'altres

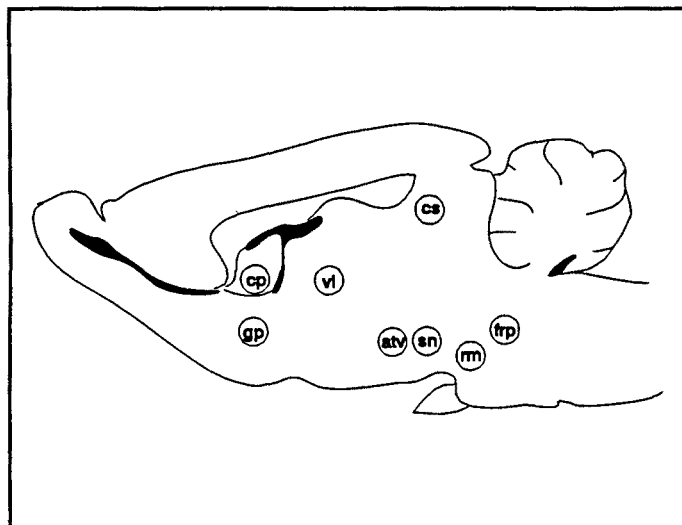
àrees cerebrals, causant així alteracions generalitzades en la conducta de resolució de problemes. Una altra possible explicació proposada pels mateixos autors és que l'ampli rang de dèficits sorgits de la lesió d'estructures troncoencefàliques és un reflex de la desorganització dels patrons conductuals típics de cada espècie, els quals estan involucrats en l'expressió de les respostes apreses. Després de tot, ja hi ha bones raons per creure que l'aprenentatge és una elaboració dels patrons de conducta innats (Mesulam, Mufson, Wainer i Levey, 1992).

En base a tots els resultats obtinguts, Thompson, Crinella i Yu (1990) han definit una sèrie de grups d'estructures cerebrals (mecanismes neurals) que semblen ser importants per a l'adquisició normal de determinats tipus de tasques de resolució de problemes. Alguns tipus d'aprenentatges, com els que impliquen hàbits de discriminació visual i espacial, podrien necessitar la intervenció de només tres d'aquests mecanismes neurals, mentre que d'altres tasques n'implicarien com a mínim a 5 d'aquests. Els sistemes d'aprenentatge proposats per Thompson, Crinella i Yu (1990) són els següents:

### **1) Mecanisme no específic**

Aquest mecanisme equival a l'antic mecanisme inespecífic del sistema general d'aprenentatge proposat en un principi per Thompson i Yu (1987). La identificació d'aquest mecanisme es va realitzar determinant quins llocs cerebrals estaven associats amb dèficits d'aprenentatge en totes les tasques proposades. Ara bé, cal dir que el nombre de tasques estudiades és insuficient per treure conclusions definitives, ja que per exemple tasques que mesurin l'aprenentatge en gàbies de Skinner, en laberints radials o en gàbies d'evitació, estan excloses d'aquesta bateria de tests. Aquest mecanisme englobaria els següents nuclis: l'estriat dorsal (CP), el globus pallidus (GP), el tàlem

ventrolateral (VL), la substància negra (SN), l'àrea tegmental ventral (ATV), els



**Figura 3.2,1:** Estructures integrades dins del mecanisme no específic (Thompson, Crinella i Yu, 1990)

col·licles superiors (CS), el nucli medial del rafe (RM) i la formació reticular pontina (FRP). Els diferents elements d'aquest sistema estan relacionats amb el sistema dels ganglis basals que malgrat la seva important funció en el context motor, actualment s'hipotetitza que aquest circuit subcortical també podria jugar un important paper en les activitats cognitives, incloent

conductes seqüencials, l'atenció, l'aprenentatge i la memòria, i els processos d'intenció (Thompson, Crinella i Yu, 1990). Per tant, a partir d'aquí aquests autors han proposat el sistema dels ganglis basals com a centre o cor del sistema no-específic. Però, per què d'altres estructures directament relacionades amb els ganglis basals no estan també incloses dins d'aquest sistema? Sembla ser que tots aquests resultats no són definitius i que podrien reflectir un subgrup especialitzat dels ganglis basals especialment essencial per a la conducta general de resolució de problemes.

## 2) Mecanisme atencional visuoespacial

L'escorça parietal (CPR), el nucli anterior pretectal (APT), i la substància grisa periaqüeductal (SGP) són estructures incloses dins dels sistemes d'aprenentatges associats amb conductes o hàbits de discriminació, de laberints i de reconeixement d'espais. Serien estructures crítiques pel que fa a l'orientació cap a objectes en l'espai extrapersonal. De

fet l'escorça parietal ja ha estat relacionada tant amb els mecanismes visoespials com atencional. Cal destacar el fet que rates joves amb lesions en algun d'aquest tres nuclis estan generalment sanes, alertes, motivades i sense aparentment cap desordre motor o emocional.

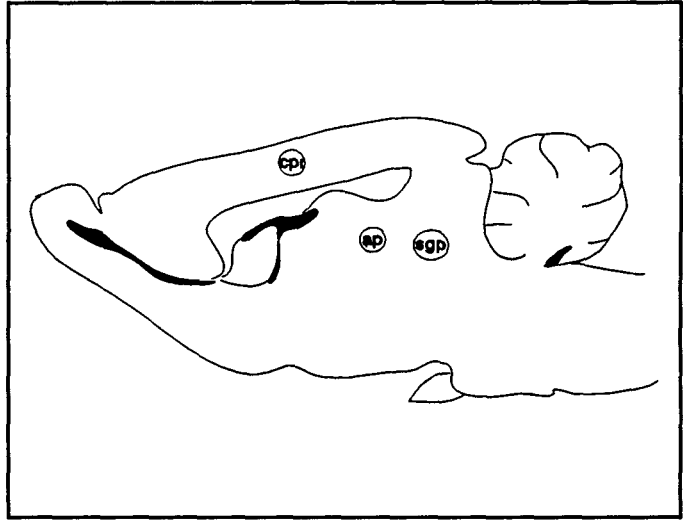


Figura 3.2,2: Estructures integrades dins del mecanisme atencional visuoespacial (Thompson, Crinella i Yu, 1990)

### 3) Mecanisme de discriminació visual

Les estructures integrants d'aquest sistema són: la retina, el còrtex occipitotemporal (OC), l'àrea entorinal-subicular (ES), el tàlem ventrobasal (VB), el nucli entopeduncular (EP), el subtàlem (SBT), l'hipotàlem anterior (HA), l'hipotàlem posterolateral (HP) i el nucli del rafe dorsal (NRD). La lesió d'alguna d'aquestes 9 estructures comporta dèficits en les

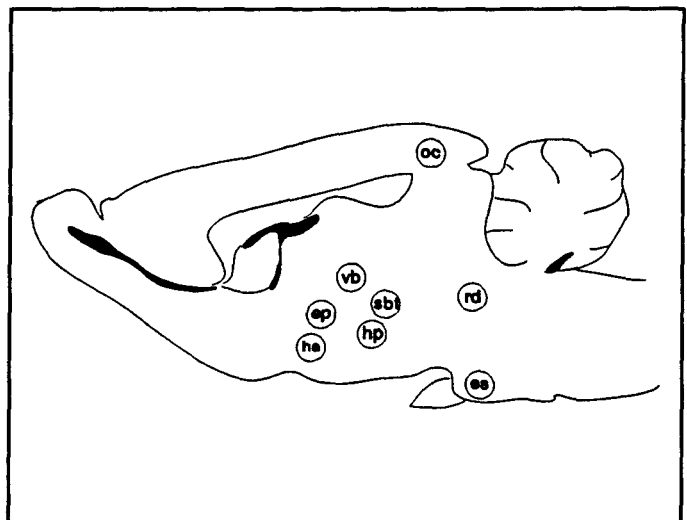


Figura 3.2,3: Estructures integrades dins del mecanisme de discriminació visual (Thompson, Crinella i Yu, 1990)

tasques que requereixen principalment d'una bona capacitat de discriminació visual. Thompson, Crinella i Yu (1990) proposen com a centre d'aquest mecanisme a les via



retina-geniculat-occipitotemporal. La resta de components agafarien importància en aquest sistema en funció de la seva relació amb aquesta via principal.

#### **4) Mecanisme de discriminació vestibular-propioceptiu-cinestèsic**

És el mecanisme més extens, ja que consta de 16 estructures: el còrtex frontocingulat (FC), el còrtex cingulat posterior (CCP), l'àrea del septofornix (SF), l'hipocamp ventral (HV), el tàlem anterior (TA), el tàlem centrolateral (CL), el tàlem lateral (TL), el tàlem dorsomedial (DM), el tàlem ventromedial (VM), el nucli parafascicular del tàlem (PF), l'àrea pretectal medial (APT), els cossos mamil·lars (M), la formació reticular mesencefàlica anterior (FRM), l'àrea tegmental interpeduncular (IP), el nucli vermell (NV) i el cerebel (CB). Components addicionals d'aquest mecanisme poden ser el nucli vestibular de la medulla, el fascicle longitudinal medial, el lemnisc medial, i d'altres vies ascendents espinals troncoencefàliques que transmeten informació vestibular, propioceptiva o cinestèsica.

Des d'un punt de vista neuroanatòmic aquest mecanisme sembla tenir 2 possibles centres neuràlgics: d'una banda el *circuit cerebel·lorubrolàmic*, i d'altra banda el *circuit mamil·lotalàmicocortical*. Els components del primer serien el cerebel, el nucli vermell, l'àrea central tegmental interpeduncular, la formació reticular mesencefàlica anterior, l'àrea pretectal medial, el nucli parafascicular, el nucli talàmic ventromedial, i el nucli talàmic centrolateral (esquematzats en la figura 3.2,4 pels cercles en línia discontinua); mentre que els components del segon sistema serien els cossos mamil·lars, el tàlem lateral, el tàlem dorsomedial, el nucli talàmic anterior, el septofornix, l'hipocamp ventral, el còrtex frontocingulat i el còrtex cingulat posterior (esquematzats en la figura 3.2,4 pels cercles en línia continua). Ara bé, aquests dos circuits semblen donar lloc a dos funcions diferents. El circuit cerebel·lorubrolàmic s'ha assumit com

a responsable de les funcions motores relacionades amb la coordinació dels moviments i amb la realització d'actes habilidosos i qualificats o precisos (Evarts and Trach,1969), mentre que el segon circuit sembla ser que mediarà l'experiència emocional del processament de la memòria (Papez,1937). Malgrat això, la normal adquisició de les tasques de resolució de problemes que

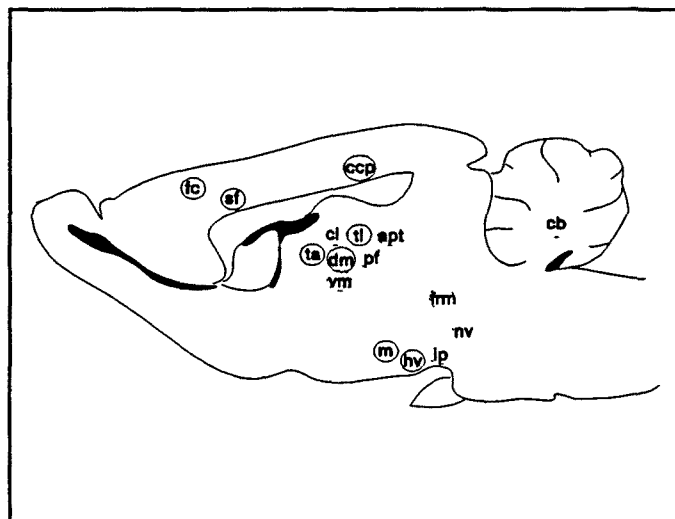


Figura 3.2,4: Estructures integrades dins del mecanisme de discriminació vestibular-propioceptiu-cinestèsic (Thompson, Crinella i Yu, 1990)

involucren pistes vestibulars-propioceptives-cinestèsiques sembla ser que requereix de la integritat de les dues vies, una referent a les funcions motores i l'altra referent a les funcions emocionals i mnèsiques. En el cas de la rata, les funcions de processament de la memòria necessàries per a la resolució de les tasques espacials que composaven la bateria de tests que va donar lloc a aquest sistema (tasques de tipus espacial: pla inclinat, laberint..) com, per exemple, discriminació dreta-esquerra, inversió de la posició...etc, van inevitablement lligades amb informació de tipus vestibular-propioceptiva-cinestèsica. La bona consecució de les tasques de resolució de problemes que s'engloben en aquest sistema van requerir del processament de senyals vestibulars, propioceptius i cinestèsics, però a la vegada el processament de tots aquests senyals va dependre de la integritat i participació tant de la via cerebel·lorubrotalàmica com de la mamil·lotalamocortical.

### 5) Mecanisme d'aprenentatge del lloc

Aquest mecanisme comprèn 9 estructures: el bulb olfatori (BO), el còrtex frontal ventral (CFV), l'hipocamp dorsal (HD), l'amígdala (AM), l'habènula (HB), l'estriat

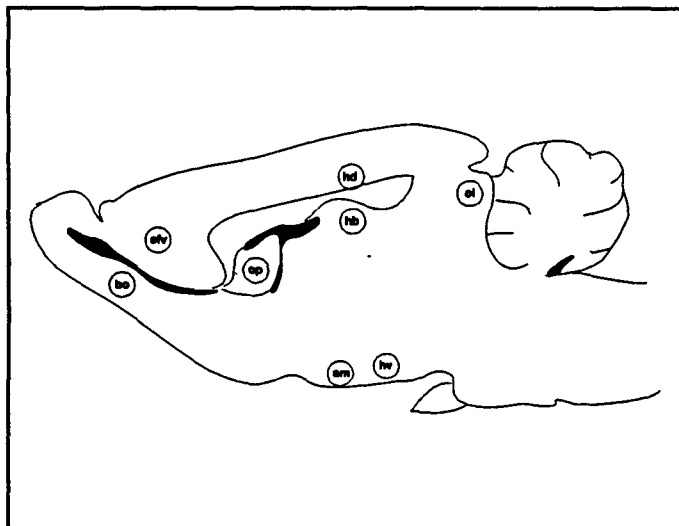


Figura 3.2,5: Estructures integrades dins d'aprenentatge del lloc (Thompson, Crinella i Yu, 1990)

d'altres estructures cerebrals, com per exemple el còrtex occipitotemporal, el septofornix i els cossos mamil·lars, que en un principi podrien també formar part d'aquest sistema, atesa la seva relació amb aquest tipus d'aprenentatge.

#### 6) Mecanisme de flexibilitat de la resposta

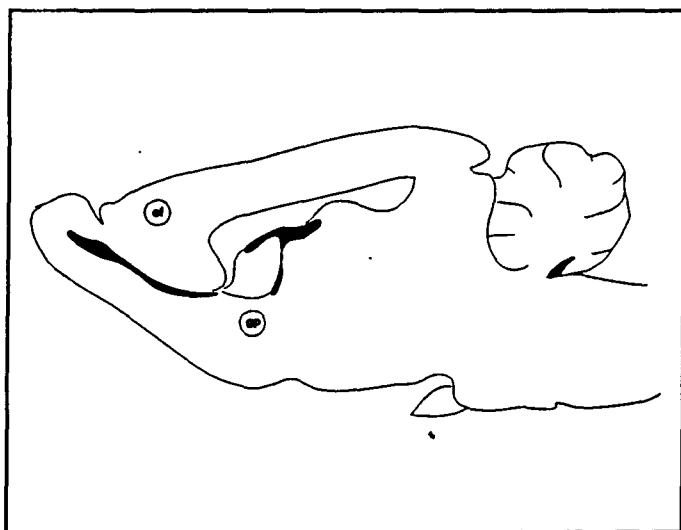


Figura 3.2,6: Estructures integrades dins del mecanisme de flexibilitat de la resposta (Thompson, Crinella i Yu, 1990)

anterior (CP), l'estriat ventral (CPv), l'hipotàlem (HV) i els col·licles inferiors (CI). Es va definir localitzant les estructures que semblaven ser determinants per a les tasques de resolució de problemes que implicaven un aprenentatge del lloc, que és un tipus d'aprenentatge que consisteix en una representació interna de les rutes espacials de l'exterior. Malgrat això hi ha

El concepte de la flexibilitat de la resposta es basa en la premissa que la conducta de desviació, estudiada en una de les tasques de la bateria de test, s'adapta a l'estudi de l'habilitat de qualsevol subjecte experimental per descartar respostes no exitoses i triar-ne altres de noves, fins que en troba la correcta. Només dues estructures s'han situat dins d'aquest sistema: el còrtex

frontal dorsal (CF) i el pallidum ventral (GP) (vegeu figura 3.2,6). És per aquesta raó que els mateixos autors recomanen prendre amb prudència l'existència d'aquest sisè mecanisme neural, ja que caldrien més estudis per a la seva plena confirmació.

En resum, malgrat que estructures crítiques per a diferents tipus d'aprenentatges es poden localitzar en regions cerebrals molt diverses, sí sembla ser que aquestes estructures es poden classificar en diferents subsistemes crítics per a una bona resolució de diferents tipus de tasques. Es destaca d'entre tots ells un mecanisme (mecanisme no específic d'aprenentatge) que resulta essencial per a una adquisició normal de qualsevol tipus d'aprenentatge. El nucli parafascicular del tàlem, en principi, s'inclou dins del mecanisme neural involucrat en aprenentatges que impliquen una discriminació vestibular-propioceptiva-cinestèsica, i en concret dins la via cerebel·lorubrotàlica. S'ha observat que la lesió d'aquest nucli comporta dèficits en tasques que necessiten, per a la seva consecució, aquest esmentat tipus de capacitat discriminativa. Però, malgrat tot, també podria ser que aquest nucli estigués més o menys implicat amb el mecanisme no específic d'aprenentatge, atesa la seva estreta relació tant amb els ganglis basals (considerats com a centre del mecanisme no específic d'aprenentatge), com també amb el sistema reticular activador ascendent i amb el còrtex frontal. Cal recordar que els resultats d'aquest treball no són ni molt menys definitius, ja que manquen per estudiar determinats tipus d'aprenentatges com, per exemple, el de l'evitació condicionada, l'aprenentatge del laberint radial o aprenentatges que mesurin discriminació auditiva o olfactiva.



## **4. EXPERIMENT I**

---



## 4.1. OBJECTIUS

L'objectiu principal d'aquest primer experiment és l'estudi dels efectes de l'estimulació elèctrica intracranial (EIC) del nucli parafascicular (PF) del tàlem sobre l'adquisició i retenció d'un condicionament d'evitació activa de dos sentits (EV2). Com que no tenim informació dels paràmetres òptims d'estimulació elèctrica del PF, i tenint en compte la relació d'aquest nucli amb el sistema sensoperceptiu del dolor (vegeu punt 2.2.3), hem considerat dos objectius més. En primer lloc, dissenyar unes sessions de tractament per a cadascun dels subjectes, prèvies a les sessions d'adquisició del condicionament, de recerca d'una estimulació no-convulsiva i sota la qual els animals no mostrin conductes anormals (estereotípies, manifestacions de dolor, ...) per així evitar l'aplicació posterior d'una intensitat de corrent perjudicial pels mateixos. En aquest sentit també varem incloure un grup de control exclusivament per a la valoració dels efectes d'aquestes sessions prèvies sobre les sessions posteriors d'aprenentatge. En segon lloc, escollir dos temps d'estimulació post-entrenament diferents amb la finalitat de comprovar si aquest paràmetre podria ser crític en els possibles efectes moduladors del nucli PF sobre els processos d'aprenentatge i memòria.

Per assolir aquests objectius vàrem dissenyar un experiment amb 145 rates albines mascle de la soca Wistar en les que s'estudia l'efecte de l'EIC del nucli PF sobre l'adquisició distribuïda (5 sessions de 10 assaigs cadascuna) i sobre la retenció a llarg termini (10 dies) d'una resposta d'EV2 (shuttle-box). Els subjectes han estat assignats a l'atzar en 4 grups experimentals: 2 grups de control, un d'ells amb tractament previ de recerca d'una intensitat no-convulsiva (grup CONTROL-EIC) i l'altre sense tractament d'EIC en cap moment (grup CONTROL); i 2 grups experimentals (grup EIC-10 i grup EIC-5) en els que es valora l'efecte de 10 i 5 minuts, respectivament, d'EIC del nucli PF post-entrenament.





## **4.2. MATERIAL I PROCEDIMENT**

### **4.2.1. Subjectes**

Per a la realització d'aquest experiment s'han utilitzat un total de 145 rates albinas mascles de la soca Wistar procedents del nostre estabulari d'animals experimentals. Quatre dies abans de les primeres manipulacions experimentals, cada animal era aïllat en una gàbia individual de material plàstic (42x26x14 cm) coberta amb una tapa d'enreixat metàl·lic. Com s'especificarà més endavant (vegeu punt 4.3.1), 72 d'aquests subjectes (Ss) van superar totes les fases experimentals segons els criteris establerts. L'edat mitjana d'aquests 72 Ss al començament del procés experimental era de 91.986 dies (DE=3.683), i el seu pes mitjà, també a l'inici de l'experiment, era de 427.886 g. (DE=52.137). Dins els 4-5 dies abans de la intervenció quirúrgica, tots els Ss van ser manipulats diàriament per tal d'aconseguir que s'habituessin a les condicions experimentals. També es va portar un control diari de pes i de neteja, que es va perllongar al llarg de tot l'experiment. Durant el temps entre les sessions experimentals, els Ss van restar sempre a l'estabulari del nostre laboratori, amb uns paràmetres constants de temperatura ambient (21-25 °C) i humitat (40-70 % HR), sota un cicle de llum-obscuritat artificialment controlat (12 x 12 hores), i amb aigua i menjar "ad libitum".

### **4.2.2. Fabricació i Implantació dels Elèctrodes.**

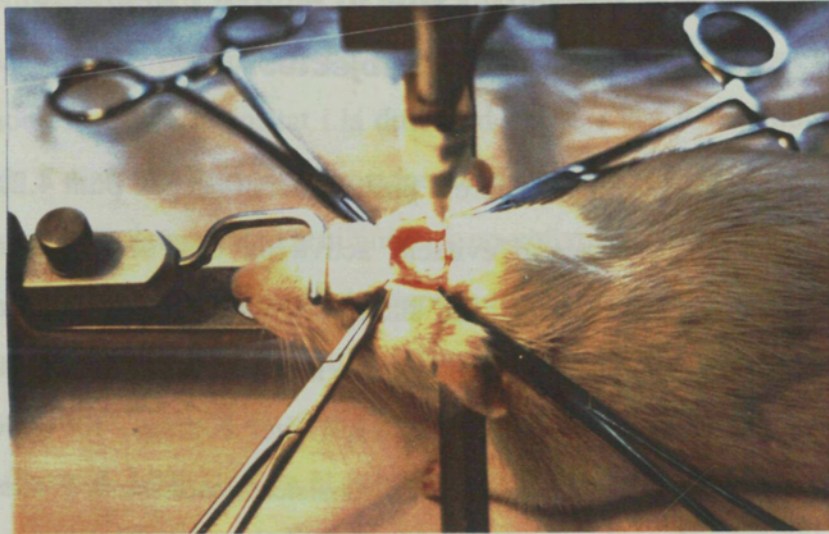
Els elèctrodes d'estimulació que es van utilitzar en aquest experiment van ser fabricats per nosaltres mateixos amb fil d'acer inoxidable templat, de 130 µm de

### *Experiment 1*

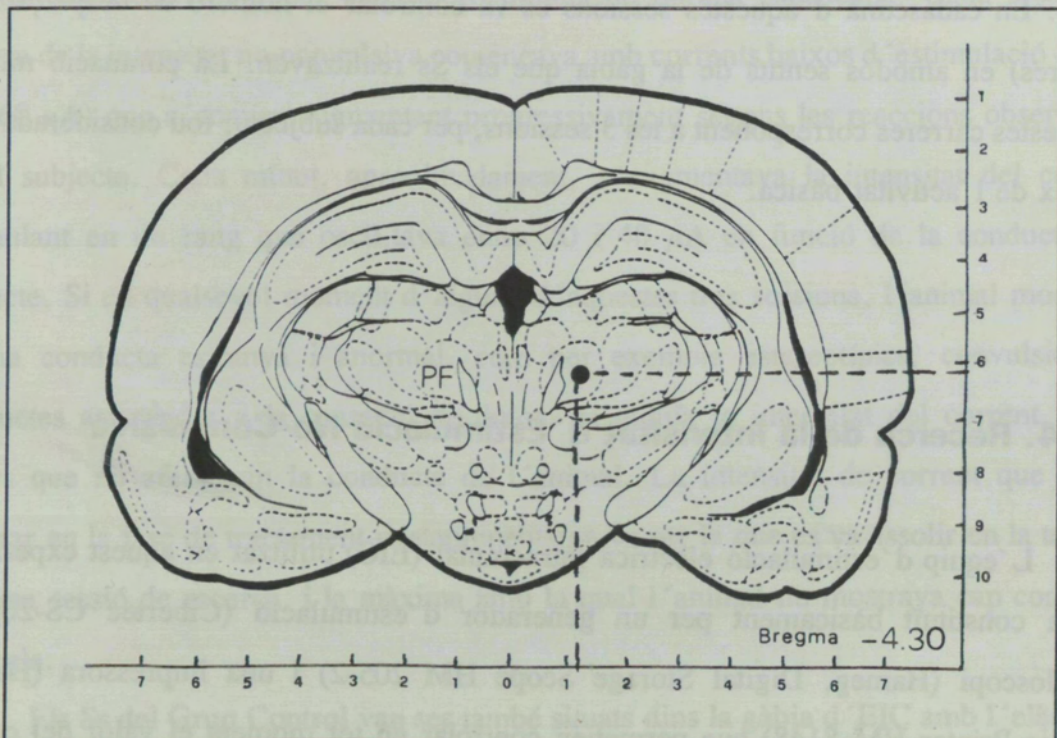
diàmetre, seguint el procediment descrit per Morgado (1981). Aquests elèctrodes anaven connectats, mitjançant soldadures, a una de les 4 micro-terminals d'alumini d'un connector de material plàstic, el qual, un cop introduït l'elèctrode dins del cervell de l'animal, es fixava al crani dels Ss experimentals sobre quatre vissos d'ancoratge per mitjà de ciment dental (Simplex-Rapid, Howmedica International Ltd, London). L'elèctrode de referència, consistent en un fil de coure de 200  $\mu\text{m}$  de diàmetre, anava soldat a una altra de les 4 micro-terminals del connector i durant la intervenció es soldava a un dels quatre vissos d'ancoratge, amb la finalitat de tancar el circuit elèctric de corrent discontinu entre el generador i el cervell de l'animal .

La implantació crònica dels elèctrodes en els cervells dels Ss es va dur a terme seguint procediments convencionals de cirurgia (Morgado, 1981) i utilitzant un aparell estereotàxic (model 1504, David Kopf Instruments, USA) amb adaptador per a rates (vegeu figura 4.2,1). Prèviament a la intervenció quirúrgica, els Ss foren anestesiats intraperitonealment amb Pentobarbital sòdic (50 mg/Kg). També se'ls va injectar, per via intra-muscular, un antibiòtic d'ampli espectre (Estrepto P.H:0.2 ml.) a fi d'evitar possibles infeccions postoperatòries. Un cop finalitzada la intervenció s'aplicava un antisèptic tòpic (Topionic-Rius) sobre la ferida quirúrgica. Durant la intervenció, la temperatura corporal dels animals es va mantenir constant mitjançant una estora elèctrica.

Els elèctrodes d'estimulació van ser implantats al nucli parafascicular del tàlem de l'hemisferi dret del cervell de cada animal. Les coordenades estereotàxiques corresponents al nucli PF que es van utilitzar van ser les següents: -4.30 mm posterior a Bregma, +1.20 mm lateral a la línia mitjana sagital i -6.20 mm de profunditat a partir de la superfície del crani (Patxinos i Watson, 1986) (vegeu figura 4.2,2). Un cop finalitzada la intervenció estereotàxica hi havia un període de recuperació postoperatòria de 5 dies, en els quals, a part del control de pes de l'animal, no es realitzava cap altre manipulació.



**Figura 4.2,1:** Subjecte experimental situat a l'aparell d'estereotàxia en el moment de la implantació crònica de l'elèctrode d'estimulació al nucli parafascicular del tàlem (PF)(Àrea de Psicobiologia, U.A.B.,1992).



**Figura 4.2,2:** Coordenades estereotàxiques corresponents al nucli parafascicular (PF) del tàlem del cervell de la rata, segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).

### **4.2.3. Adaptació a la Gàbia d'Evitació Activa i Mesures de l'Activitat Bàsica dels Subjectes.**

En aquest experiment, com veurem posteriorment (vegeu punt 4.2.5), els animals van ser entrenats en una tasca d'evitació activa de dos sentits (shuttle-box). Per familiaritzar als Ss amb aquest tipus de situació i per reduir al màxim les possibles pseudo-evitacions i la relació inversa que, degut a la por, sembla existir entre la intensitat del xoc i l'execució de la resposta (McAllister, Dieter i James, 1979), cada animal va rebre 1 sessió diària, durant 3 dies successius, consistentes cadascuna d'elles en deambular lliurement durant 20 minuts per l'interior de la gàbia experimental. Aquestes sessions van dur-se a terme entre les 10 i les 12 hores de cada dia i en les mateixes condicions de lluminositat i insonorització que durant els assaigs posteriors d'aprenentatge (vegeu punt 4.2.5). En cadascuna d'aquestes sessions es va controlar el número de desplaçaments (carreres) en ambdós sentits de la gàbia que els Ss realitzaven. La puntuació mitjana d'aquestes carreres corresponent a les 3 sessions, per cada subjecte, fou considerada com a índex de l'activitat bàsica.

### **4.2.4. Recerca de la Intensitat d'Estimulació No-Convulsiva**

L'equip d'estimulació elèctrica intracranial (EIC) utilitzat en aquest experiment estava constituït bàsicament per un generador d'estimulació (Cibertec CS-20), un oscil·loscopi (Hameg, Digital Storage Scope HM 205-2) i una impressora (Hameg, graphic Printer HM 8148) que permetien controlar en tot moment el valor del corrent d'estimulació administrat al subjecte. El corrent d'estimulació utilitzat era de 50Hz de

freqüència de pulsació durant 10 mseg., i amb una freqüència de trens d'1 Hz i 200 mseg. de durada. Aquests paràmetres del corrent van ser fixes durant tot l'experiment manipulant-se només la seva intensitat i la durada del temps d'EIC del nucli PF.

Passats els 5 dies de recuperació postoperatòria, es procedia a realitzar la primera sessió de recerca de la intensitat d'estimulació no-convulsiva per cada subjecte. Per aquesta recerca, després de cada sessió d'adaptació a la gàbia d'evitació (shuttle-box), es situava al subjecte en la gàbia d'EIC. Aquesta era una gàbia de 46 x 43 x 47cm d'altura construïda amb plaques de plexiglas, amb una única llum molt tènue en el seu interior (vegeu figura 4.2,3). Un cop el subjecte ja estava situat a l'interior de la gàbia d'EIC s'endollava el cable estimulador procedent del generador de corrent al connector, que el subjecte duia implantat en el seu cap, i es procedia a la recerca d'una intensitat d'estimulació que no afectes en cap moment a la conducta normal del subjecte en 3 sessions consecutives, 1 per dia, de 10 minuts de durada cadascuna. Cada sessió de recerca de la intensitat no-convulsiva començava amb corrents baixos d'estimulació (entre 20 i 60  $\mu$ A) que s'anaven augmentant progressivament segons les reaccions observades en el subjecte. Cada minut, aproximadament, s'augmentava la intensitat del corrent estimulant en un rang que oscil.lava entre 20 i 40  $\mu$ A en funció de la conducta del subjecte. Si en qualsevol moment d'alguna d'aquestes tres sessions, l'animal mostrava alguna conducta estranya i anormal, com per exemple estereotípies, convulsions o conductes associades a la sensació de dolor, es reduïa la intensitat del corrent fins a valors que no afectessin la conducta de l'animal. La intensitat de corrent que es va utilitzar en la fase de tractament postaprenentatge va ser la que es va assolir en la tercera i última sessió de recerca, i la màxima amb la qual l'animal no mostrava cap conducta anòmala.

Els Ss del Grup Control van ser també situats dins la gàbia d'EIC amb l'elèctrode endollat a l'aparell generador de corrent però no se'ls va administrar en cap moment estimulació elèctrica intracranial.

Aquestes sessions van dur-se a terme entre les 10 i les 13 hores de cada dia i en les mateixes condicions de lluminositat e insonorització que durant la fase posterior d'adquisició d'aprenentatge i d'administració del tractament d'EIC (vegeu punt 4.2.5).

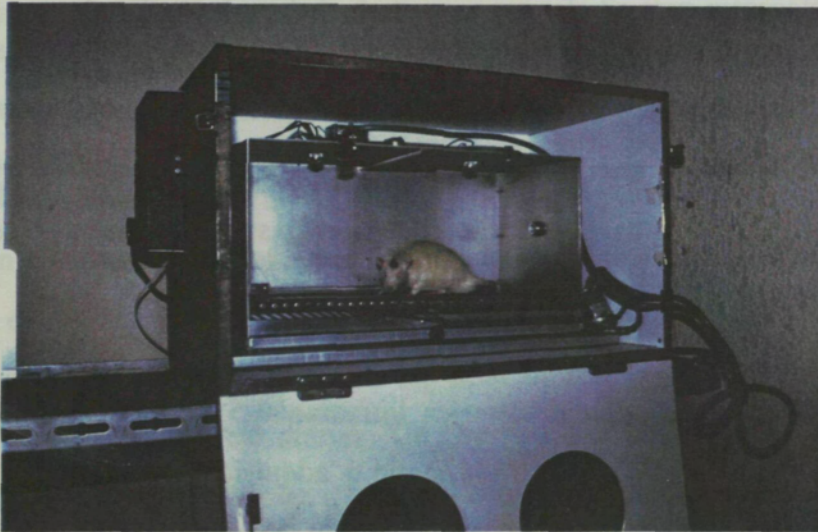


Figura 4.2,3: Rata situada en la gàbia d'estimulació elèctrica intracranial (EIC)(Àrea de Psicobiologia, U.A.B.,1992).

#### 4.2.5. Adquisició de l'Aprenentatge i Tractament amb EIC.

La fase d'adquisició de l'aprenentatge s'iniciava al cap de dos dies d'haver finalitzat les fases d'adaptació a la gàbia d'evitació i a la gàbia d'EIC. La tasca d'aprenentatge en la qual es va entrenar als Ss consistia en un condicionament operant d'evitació activa de dos sentits, distribuït en 5 sessions experimentals de 10 assaigs cadascuna, i separades entre elles per un període de 24 hores. Aquest condicionament es va realitzar en una gàbia convencional (shuttle-box, Campden Instruments, Ltd.) de 48,5x

23,1x20,7 cm. de longitud, profunditat i altura respectivament. L'estímul condicionat consistia en un to de 80 dB d'intensitat i 3 segons de durada. La llum ambiental provenia de dos pilots de 2,8 W cadascun situats en el sostre. Tot el dispositiu es situava en l'interior d'una caixa d'insonorització dotada d'un extractor d'aire que produïa un so emmascarador de sorolls externs (vegeu figura 4.2,4). L'estímul incondicionat aversiu era un xoc elèctric de 1 mA d'intensitat administrat a les potes de l'animal a través del terra enreixat de la gàbia d'evitació activa. L'estímul aversiu tenia una durada màxima de 30 segons, i s'acabava quan el subjecte canviava de compartiment ("resposta de fugida"). Quan l'animal experimental ja havia associat el so amb el xoc, només la presentació del so, ocasionava que el Ss canviés de compartiment, evitant així la presència de l'estímul incondicionat ("resposta d'evitació").



**Figura 4.2,4:** Rata situada en la gàbia d'evitació activa de dos sentits (shuttle-box)(Àrea de Psicobiologia, U.A.B.,1992)



## *Experiment 1*

El programa de condicionament dins de cada sessió era d'interval variable d'1 minut. Durant l'interval de temps entre cada assaig, s'enregistrava el nombre de carreres que cada subjecte experimental realitzava passant d'un compartiment a l'altre de la gàbia d'evitació (carreres entre assaig). Així doncs, en cada sessió d'adquisició de l'aprenentatge, es mesuraven el nombre total de carreres entre assaigs i el nombre total de respostes d'evitació. Aquesta última mesura és la que prenem com a nivell d'adquisició assolit en cada sessió.

Immediatament després de cada sessió d'adquisició, cada subjecte era situat a l'interior de la gàbia d'EIC amb el connector provinent del generador de corrent endollat a l'elèctrode que, prèviament se l'hi havia implantat estereotàxicament. A partir d'aquest punt, el tractament era diferent en funció del grup al que pertanyia el subjecte, ja que a l'inici de la fase d'adaptació a la gàbia d'evitació activa de dos sentits, els Ss van ser distribuïts a l'atzar en els 4 grups següents:

- 1) **EIC-10** (Grup d'estimulació elèctrica intracranial-10 minuts): Als Ss d'aquest grup, immediatament després de cada sessió d'adquisició de l'aprenentatge, se'ls administrava EIC del nucli PF durant un període de temps de 10 minuts. Prèviament s'havia realitzat la recerca d'una intensitat de corrent d'estimulació no-convulsionant.
- 2) **EIC-5** (Grup d'estimulació elèctrica intracranial-5 minuts): Als Ss d'aquest grup, immediatament després de cada sessió d'adquisició de l'aprenentatge, se'ls administrava, durant un període de temps de 5 minuts, EIC del nucli PF. Prèviament s'havia realitzat la recerca d'una intensitat de corrent d'estimulació no-convulsiva.

3) **CONTROL-EIC** (Grup control amb tractament d'EIC previ a les sessions d'aprenentatge): Als Ss d'aquest grup se'ls havia realitzat també la recerca d'una intensitat de corrent estimulant no-convulsiva. Es diferenciaven dels dos grups anteriors en que no se'ls-hi administrava tractament amb EIC posterior a les sessions d'aprenentatge, malgrat que també eren situats a la gàbia d'EIC en els minuts posteriors a cada sessió d'adquisició del condicionament.

4) **CONTROL** (Grup Control sense tractament amb EIC): Els Ss d'aquest grup, tot i que passaven per les mateixes fases experimentals que la resta de grups no rebien en cap moment tractament amb EIC. Malgrat no rebre tractament, també eren situats a la gàbia d'EIC en els 10 minuts posteriors a cada sessió d'adquisició de l'aprenentatge.

Un cop finalitzat el període de tractament, els Ss eren retornats a les seves gàbies habituals i situats a l'estabulari general fins a la sessió del dia següent.

#### **4.2.6. Retenció a LLarg Termini de l'Aprenentatge.**

Un cop finalitzades les 5 sessions d'adquisició de l'aprenentatge, els Ss van restar durant 9 dies consecutius a les seves gàbies habituals i a l'estabulari general. Durant aquest període no van ser sotmesos a cap tipus de manipulació, llevat de les necessàries per a la neteja o mantenició diàries. Un cop finalitzat aquest període, es realitzava una nova i única sessió de 10 assaigs d'evitació activa de dos sentits d'iguals característiques que les sessions de condicionament de la fase d'adquisició. Aquesta sessió de retenció a llarg termini (RLT) es realitzava en idèntiques condicions per a tots els grups experimentals, ja que cap d'ells va rebre tractament d'EIC després d'aquestes sessions. També es va mesurar el nombre total de respostes d'evitació, així com el nombre total de carreres entre assaigs.

### 4.2.7. Histologia.

Al final de l'experiment es va procedir a una anàlisi histològica per verificar la localització dels elèctrodes en el cervell dels Ss. Es van seguir les següents fases, segons els procediment descrit per Morgado (1981):

- a) Perfusió del sistema vascular i fixació del teixit nerviós
- b) Extracció del cervell
- c) Obtenció de seccions seriades del teixit nerviós de 35  $\mu\text{m}$  de gruix mitjançant un microtom de congelació (Frigomobil, JOUNG)
- d) Tinció del teixit nerviós mitjançant el mètode de Violeta de Cresil
- e) Estudi de les seccions i de la localització intracranial de les puntes terminals dels elèctrodes mitjançant un microscopi binocular i amb l'ajut de l'atlas estereotàxic (Paxinos i Watson, 1986).

### 4.2.8. Resum del Disseny Experimental.

| FASE EXPERIMENTAL              | SESSIONS | GRUP EXPERIMENTAL           |                     |                 |                |
|--------------------------------|----------|-----------------------------|---------------------|-----------------|----------------|
|                                |          | EIC-10                      | EIC-5               | CONTROL-EIC     | CONTROL        |
| Adaptació i Recerca Intensitat | 1        | 20 minuts de                | lliure deambulació  | per la gàbia de | condicionament |
|                                | 2        | Gàbia d'EIC:                | Gàbia EIC:          | Gàbia EIC:      | Gàbia EIC:     |
|                                | 3        | 10' EIC                     | 5' EIC              | 10' EIC         | —              |
| Descans                        | 2 dies   |                             |                     |                 |                |
| Adquisició                     | 1        | Adquisició + 10' EIC        | Adquisició + 5' EIC | Adquisició      | Adquisició     |
|                                | 2        |                             |                     |                 |                |
|                                | 3        |                             |                     |                 |                |
|                                | 4        |                             |                     |                 |                |
|                                | 5        |                             |                     |                 |                |
| Descans                        | 9 dies   |                             |                     |                 |                |
| RLT                            | 1        | 10 assajos gàbia d'evitació |                     |                 |                |

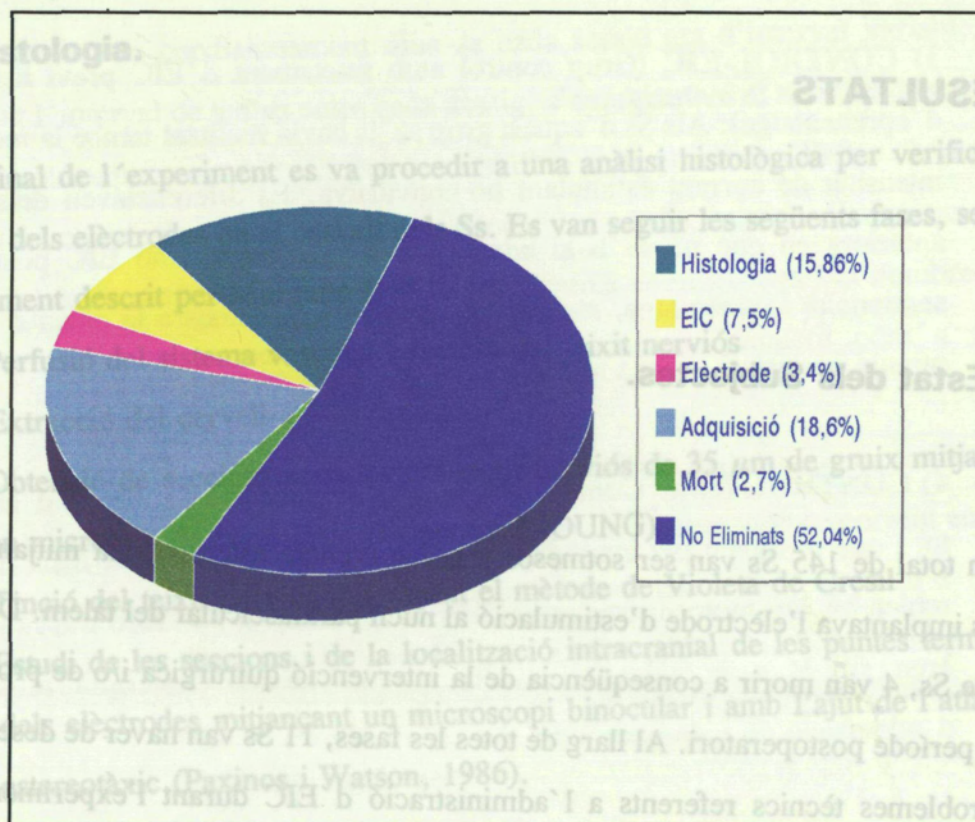
## **4.3 RESULTATS**

### **4.3.1. Estat dels Subjectes.**

Un total de 145 Ss van ser sotmesos a la intervenció estereotàxica mitjançant la qual se'ls implantava l'elèctrode d'estimulació al nucli parafascicular del tàlem. D'aquest conjunt de Ss, 4 van morir a conseqüència de la intervenció quirúrgica i/o de problemes durant el període postoperatori. Al llarg de totes les fases, 11 Ss van haver de desestimar-se per problemes tècnics referents a l'administració d'EIC durant l'experiment (mal funcionament de l'elèctrode, i per tant aplicació anormal de l'EIC), i al final de tot el procés experimental, 5 Ss més també van ser eliminats degut a la caiguda de l'elèctrode que se'ls havia implantat estereotàxicament. Pel que fa referència a les sessions d'adquisició 27 Ss van ser eliminats al final de l'experiment (10 del grup EIC-10, 2 del grup EIC-5, 8 del grup CONTROL-EIC i 7 del grup CONTROL) per haver presentat una conducta d'adquisició o de RLT irregular (cap resposta d'evitació en 3 o més sessions experimentals).

En definitiva, la mostra que va superar tot el procés experimental va ser de 95 Ss. D'aquests 95 Ss, durant el procés de revisió i estudi histològic (vegeu punt 4.3.2.), en van ser eliminats 23 com a conseqüència d'una implantació errònia de l'elèctrode (vegeu figura 4.3,1). Per tant la mostra total sotmesa a l'anàlisi i explotació estadística va ser de 72 Ss (grup EIC-10 (n=18), grup EIC-5 (n=13), grup CONTROL-EIC (n=17) i grup CONTROL (n=24)).

4.2.7. Histologia.



**Figura 4.3,1:** % de Ss eliminats per diferents causes sobre el total de la mostra (Histologia: implantació 2errònica de l'elèctrode, EIC: problemes amb l'EIC, Elèctrode: caiguda de l'elèctrode implantat estereotòxicament, Adquisició: conducta d'adquisició irregular, i Mort: mort durant el període postoperatori).

Al llarg de tot el procés experimental (5 setmanes per cada animal) cap dels 72 Ss va mostrar algun indicati d'anomalia observable que hagués pogut alterar el seu comportament. A la taula 4.3,1. hi figuren els valors mitjans i les desviacions estàndard dels pesos dels animals de cada grup i del total de la mostra; i a la figura 4.3,2 es mostra l'evolució del pes per a cada grup experimental al llarg del procés experimental.

| FASE<br>EXPERIMENT                   | GRUP            |                 |                 |                 | TOTAL           |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                      | EIC-10          | EIC-5           | CTROL-<br>EIC   | CTROL           |                 |
| Aïllament<br>(1 <sup>er</sup> dia)   | 445<br>50.85    | 448.15<br>54.96 | 400.86<br>52.59 | 420.95<br>44.67 | 427.88<br>53.37 |
| Aïllament 2<br>(7 <sup>es</sup> dia) | 447.94<br>53.37 | 416.38<br>13.71 | 375.13<br>116   | 423.50<br>44.50 | 418.10<br>89.50 |
| Estereotàxia                         | 451.38<br>53.93 | 456.23<br>53.25 | 405.26<br>53.91 | 428.25<br>45.54 | 434.47<br>53.42 |
| Postoperatori                        | 436.55<br>53.41 | 445.15<br>44.95 | 392.80<br>60.41 | 417.29<br>41.15 | 422.17<br>52.04 |
| Control<br>(8 <sup>es</sup> dia)     | 437.27<br>50.32 | 445.76<br>45.78 | 395<br>60.27    | 418.54<br>42.88 | 423.37<br>51.64 |
| Adaptació 1                          | 439.66<br>48.67 | 452.76<br>45.28 | 404.86<br>57.80 | 426.62<br>42.40 | 430.17<br>49.81 |
| Adaptació 2                          | 444<br>48.88    | 457.61<br>45.68 | 406.46<br>57.35 | 428.79<br>43.78 | 433.27<br>50.62 |
| Adaptació 3                          | 445.88<br>46.59 | 458.15<br>47.45 | 410.06<br>56.12 | 433.75<br>42.89 | 436.32<br>49.44 |
| Adquisició 1                         | 452.44<br>44.68 | 465.07<br>46.81 | 414.80<br>53.71 | 444.04<br>40.80 | 443.84<br>47.97 |
| Adquisició 2                         | 455.83<br>45.51 | 468.15<br>47.29 | 417.66<br>54.51 | 416.12<br>41.82 | 446.61<br>48.75 |
| Adquisició 3                         | 458.33<br>44.68 | 467.61<br>49.27 | 420.46<br>55    | 444.25<br>39.55 | 447.11<br>48.15 |
| Adquisició 4                         | 459.33<br>45.65 | 469.46<br>48.46 | 418.60<br>56.70 | 443.20<br>38.40 | 446.95<br>48.46 |
| Adquisició 5                         | 448.33<br>63.65 | 471.84<br>46.28 | 419.46<br>52.30 | 443.37<br>41.84 | 444.81<br>52.83 |
| RLT                                  | 482.55<br>50.05 | 481.46<br>40.74 | 457.53<br>62.17 | 472.75<br>41.51 | 473.62<br>48.51 |

Taula 4.3,1: Pesos corresponents a cada grup de Ss al llarg de les diferents fases experimentals. En cada casella s'especifiquen, en ordre vertical, els valors mitjos en grams i les desviacions estàndard.

En la figura 4.3,2 es pot observar que: 1) el pes mitjà dels Ss va tenir una evolució similar en cadascun dels 4 grups considerats, 2) els 4 grups van diferenciar-se pel que fa al valor dels seus pesos mitjans, principalment el grup CONTROL-EIC respecte de tots els demés, i 3) independentment del grup considerat, en general, el pes es va mantindre més o menys estable, llevat dels decrements en la fase postoperatòria

(fase B de la figura 4.3,2) i dels increments existents entre fases experimentals que corresponen a períodes de descans (cap de setmana entre les sessions d'adaptació i aprenentatge, i 10 dies entre l'últim dia d'adquisició i la sessió de RLT).

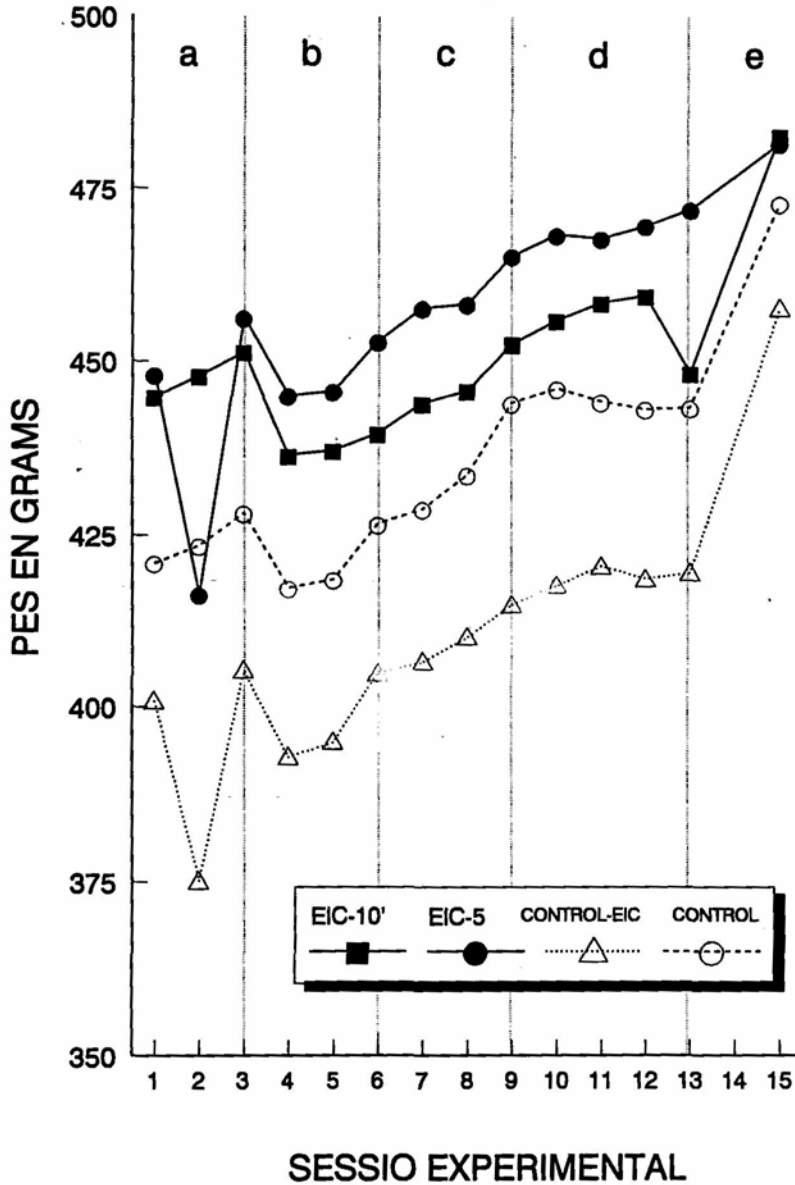


Figura 4.3,2: Evolució dels pesos mitjans dels Ss dels diferents grups experimentals al llarg del procés experimental. (a: aïllament, b: intervenció quirúrgica i recuperació postoperatòria, c: inici del període d'adaptació a la shuttle-box i a la gàbia d'EIC, d: inici de la fase d'adquisició de l'aprenentatge, e: inici del període de descans de 10 dies abans de la prova de RLT).

Entre el dia de l'aïllament i el dia de l'estereotàxia (fase a en la figura 4.3,2), el Grup EIC-10 i en el grup CONTROL-EIC, mostren una inflexió en sentit negatiu que no s'observa en la resta de grups, és a dir, presenten una disminució de pes. Aquesta davallada podria explicar-se en funció del canvi d'hàbitat pel que passa cada subjecte en la fase d'aïllament (vegeu punt 4.2.1), però el que és important en aquest cas és que després de la fase d'intervenció i implantació de l'elèctrode, tots els grups segueixen una mateixa tendència en l'evolució del pes.

Una anàlisi multivariant de la variància (MANOVA, SPSS/PC+) ens indica que hi ha diferències significatives entre grups ("Factor grup": $F_{(3,68)}=3.53$ ;  $p<0.019$ ) però en canvi aquestes no depenen del tractament, ja que el factor interacció grup per pes no és significatiu. En concret, s'observen diferències significatives de pes entre el grup EIC-10 i el grup CONTROL-EIC el dia de l'aïllament [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=6.38$ ;  $p<0.014$ ], el dia de la intervenció quirúrgica [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=6.68$ ;  $p<0.012$ ], durant el període postoperatori [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=5.99$ ;  $p<0.017$ ], el primer dia de l'adaptació a la gàbia d'EV2 [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=4.27$ ;  $p<0.043$ ], i el primer dia de l'aprenentatge [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=5.51$ ;  $p<0.022$ ]; i també entre el grup EIC-5 i el grup Control-EIC el dia de l'aïllament [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=6.23$ ;  $p<0.015$ ], el dia de l'intervenció quirúrgica [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=6.95$ ;  $p<0.010$ ], durant el període postoperatori [Contrast *Simple*:  $F_{(1,66)}=7.34$ ;  $p<0.009$ ], el primer dia de l'adaptació a la gàbia d'evitació [Contrast *Repeated*:  $F_{(1,66)}=6.89$ ;  $p<0.011$ ], el primer dia de l'aprenentatge [Contrast *Repeated*:  $F_{(1,66)}=8.36$ ;  $p<0.005$ ] i el cinquè dia d'aprenentatge [Contrast *Repeated*:  $F_{(1,66)}=7.28$ ;  $p<0.009$ ]. Cal dir que malgrat aquestes diferències significatives de pes dels grups EIC-10 i EIC-5 respecte el grup CONTROL-EIC, un estudi de la correlació dels pesos amb l'evolució de l'adquisició de l'aprenentatge, no va mostrar cap tipus de significació entre el pes assolit pels Ss en les diferents fases experimentals en tots els grups i el nombre de respostes d'evitació assolides a la gàbia de condicionament. Això fa que puguem descartar la variable pes com



a variable crítica per a l'aprenentatge.

L'anàlisi de l'evolució dels pesos al llarg de les diferents fases experimentals ens mostra que tots els grups segueixen una evolució lineal significativa ascendent [Contrast *Polynomial* (equació de 1<sup>er</sup> grau o funció lineal):  $F_{(1,66)}=120.64$ ;  $p<0.001$ ], i també cal considerar algunes inflexions de 2<sup>on</sup> grau o funció cúbica [Contrast *Polynomial*:  $F_{(1,66)}=72.5$ ;  $p<0.001$ ] i de 3<sup>er</sup> grau o funció quadràtica [Contrast *Polynomial*:  $F_{(1,66)}=6.89$ ;  $p<0.001$ ].

#### **4.3.2. Histologia.**

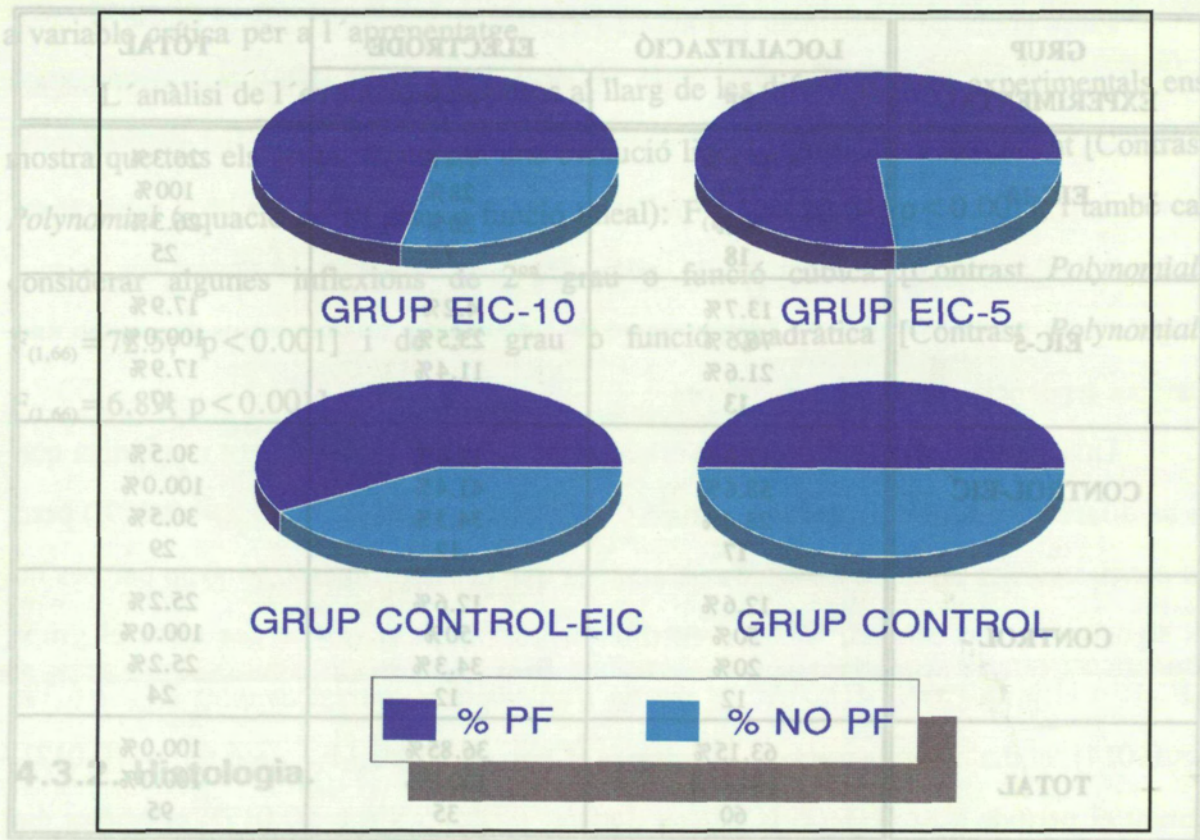
A les figures 4.3,4 a 4.3,7 es representen les localitzacions de les terminals dels elèctrodes d'estimulació crònicament implantats a cadascun dels animals dels 4 grups experimentals. A la figura 4.3,8 es poden observar, concretament per a un dels Ss experimentals, les estructures cerebrals que preniem com a referència per a la localització anatòmica de les terminals dels elèctrodes.

Com s'indica a les figures, tots els Ss tenien l'elèctrode implantat en zones cerebrals corresponents als plans anteroposteriors situats entre les coordenades - 3.60mm i -4.80mm posteriors a Bregma, segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986). Com que en aquest atlas el nucli PF està delimitat amb força precisió, en aquestes figures també podem observar si l'elèctrode estava situat dins del nucli PF. A la taula 4.3,2 estan especificats el nombre de Ss de cada grup experimental que tenien l'elèctrode en el nucli PF o fora d'aquest nucli. Aquests últims resultats també estan esquematitzats en la figura 4.3,3.

| GRUP<br>EXPERIMENTAL | LOCALITZACIÓ |        | TOTAL  |
|----------------------|--------------|--------|--------|
|                      | PF           | NO PF  |        |
| EIC-10               | 18.9%        | 7.4%   | 26.3%  |
|                      | 72%          | 28%    | 100%   |
|                      | 30%          | 20%    | 26.3%  |
|                      | 18           | 7      | 25     |
| EIC-5                | 13.7%        | 4.2%   | 17.9%  |
|                      | 76.5%        | 23.5%  | 100.0% |
|                      | 21.6%        | 11.4%  | 17.9%  |
|                      | 13           | 4      | 17     |
| CONTROL-EIC          | 17.9%        | 12.6%  | 30.5%  |
|                      | 58.6%        | 41.4%  | 100.0% |
|                      | 28.4%        | 34.3%  | 30.5%  |
|                      | 17           | 12     | 29     |
| CONTROL              | 12.6%        | 12.6%  | 25.2%  |
|                      | 50%          | 50%    | 100.0% |
|                      | 20%          | 34.3%  | 25.2%  |
|                      | 12           | 12     | 24     |
| TOTAL                | 63.15%       | 36.85% | 100.0% |
|                      | 100.0%       | 100.0% | 100.0% |
|                      | 60           | 35     | 95     |

**Taula 4.3,2:** Localització histològica dels elèctrodes d'EIC a cadascun dels grups experimentals. A cada casella s'especifiquen, en ordre vertical, el % sobre el total, el % sobre el total de la fila, el % sobre el total de la columna i el nombre de Ss. (PF= nucli parafascicular del tàlem; NO-PF = fora del PF). En negreta es marquen el nombre de Ss vàlids per a l'anàlisi dels resultats.

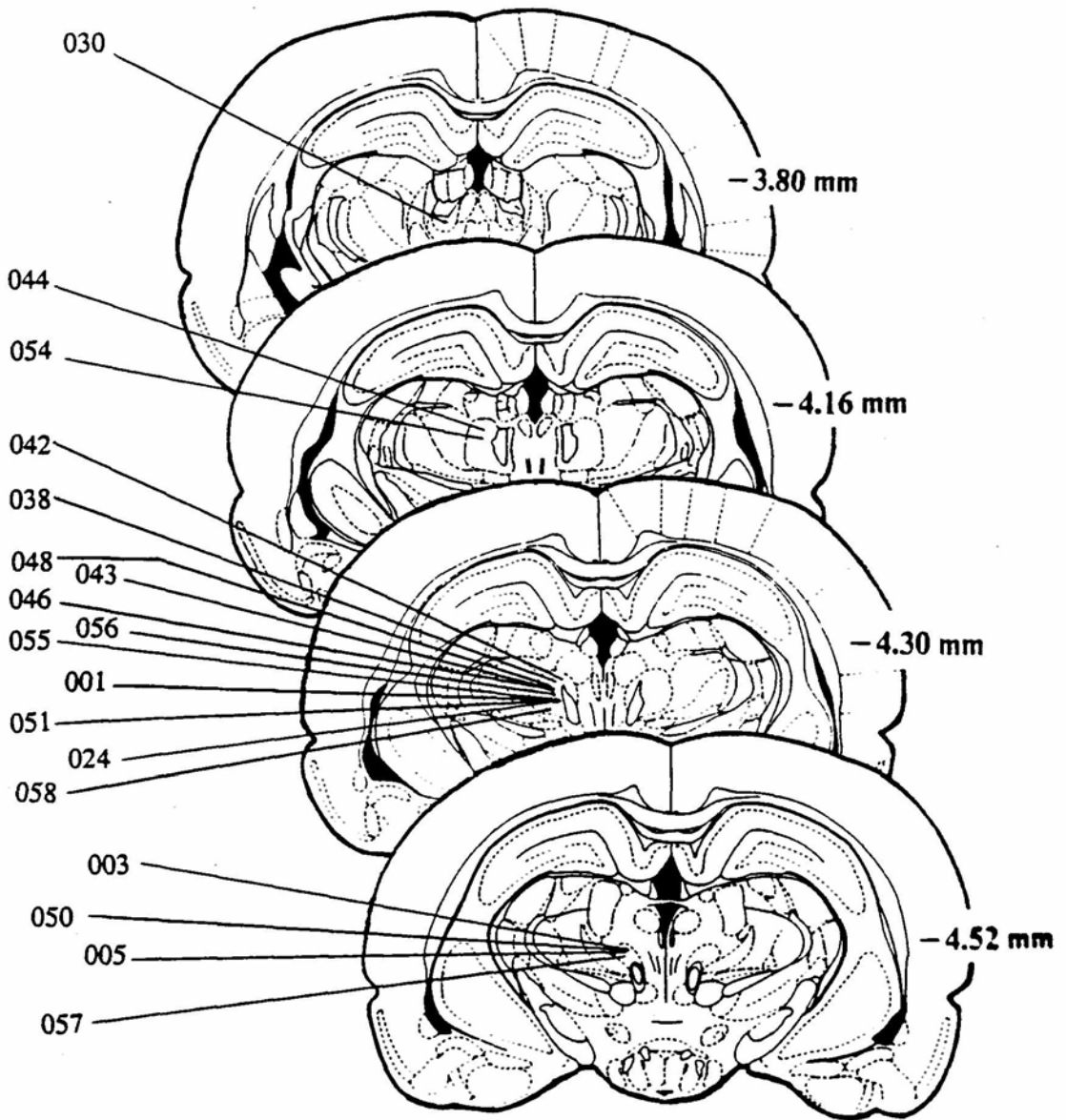
Atesa l'especificitat del tractament, el Ss amb l'elèctrode situat fora del nucli també van ser eliminats de l'experiment. Així, dels 95 Ss que havien superat totes les fases del nostre disseny experimental, se'n van eliminar 23 com a conseqüència d'una implantació errònia de l'elèctrode (7 Ss del grup EIC-10, 4 Ss del grup EIC-5 i 12 Ss del grup CONTROL-EIC). Així en aquesta taula podem observar com un 24.21% (n=23) dels Ss d'aquest experiment que havien superat totes les fases experimentals van ser exclosos de l'anàlisi dels resultats degut a una incorrecta implantació de l'elèctrode.



**Figura 4.3,3** Proporció de Ss amb l'elèctrode localitzat dins o fora del PF, dins de cada grup experimental.

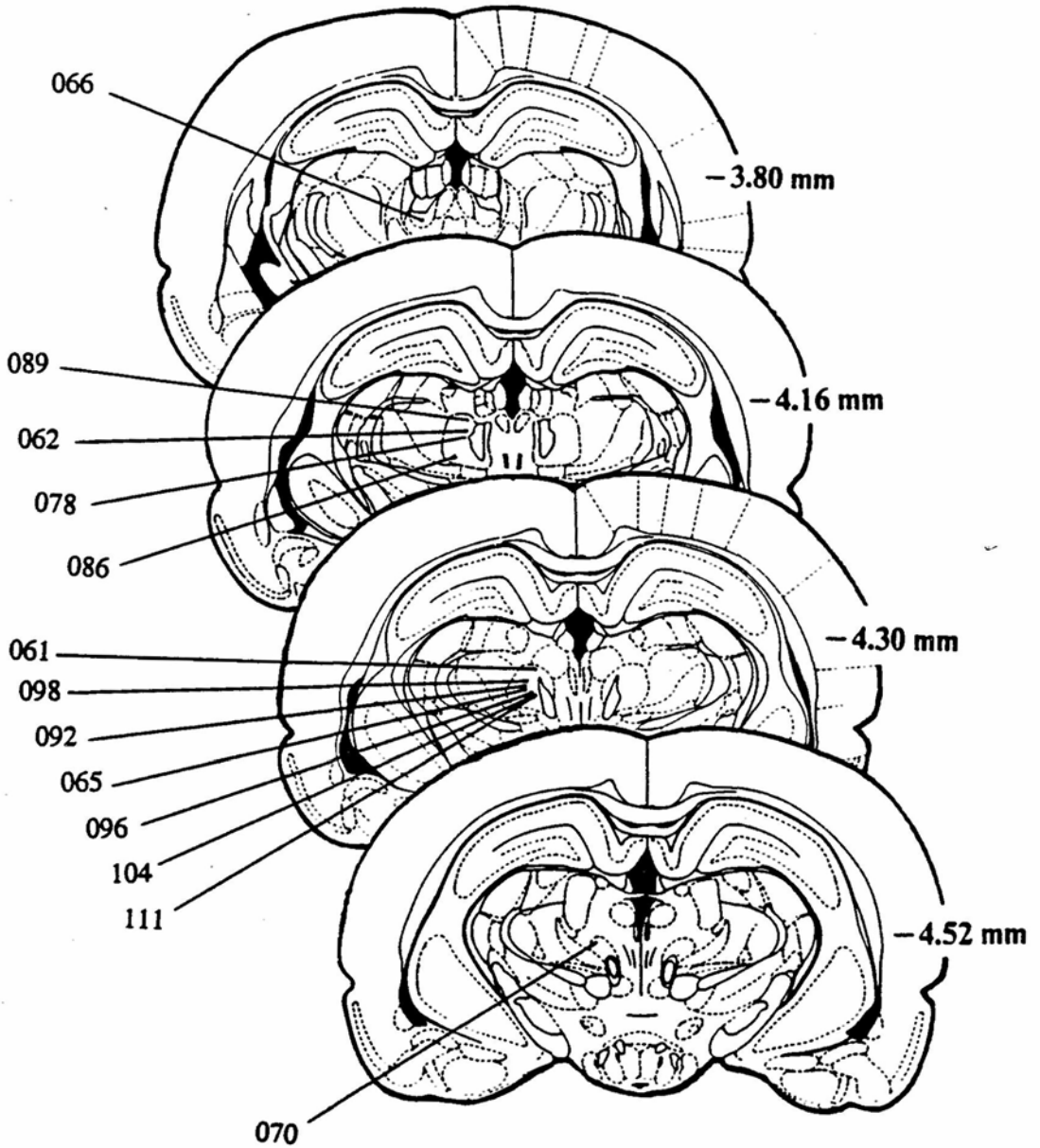
Cal assenyalar que tots els Ss del grup CONTROL van ser inclosos en l'anàlisi de resultats, independentment de la seva localització histològica de l'elèctrode. Vam optar per aquesta opció donat que aquest grup no va rebre en cap moment de la fase experimental tractament amb estimulació elèctrica. Així doncs, els grups van quedar finalment amb el següent nombre de Ss vàlids per a l'anàlisi: grup EIC-10 (n=18), grup EIC-5 (n=13), grup CONTROL-EIC (n=17) i grup CONTROL (n=24). A les figures 4.3,9 a 4.3,12, es mostren 4 fotografies representatives del resultat histològic per a cada grup.

4.3.3.

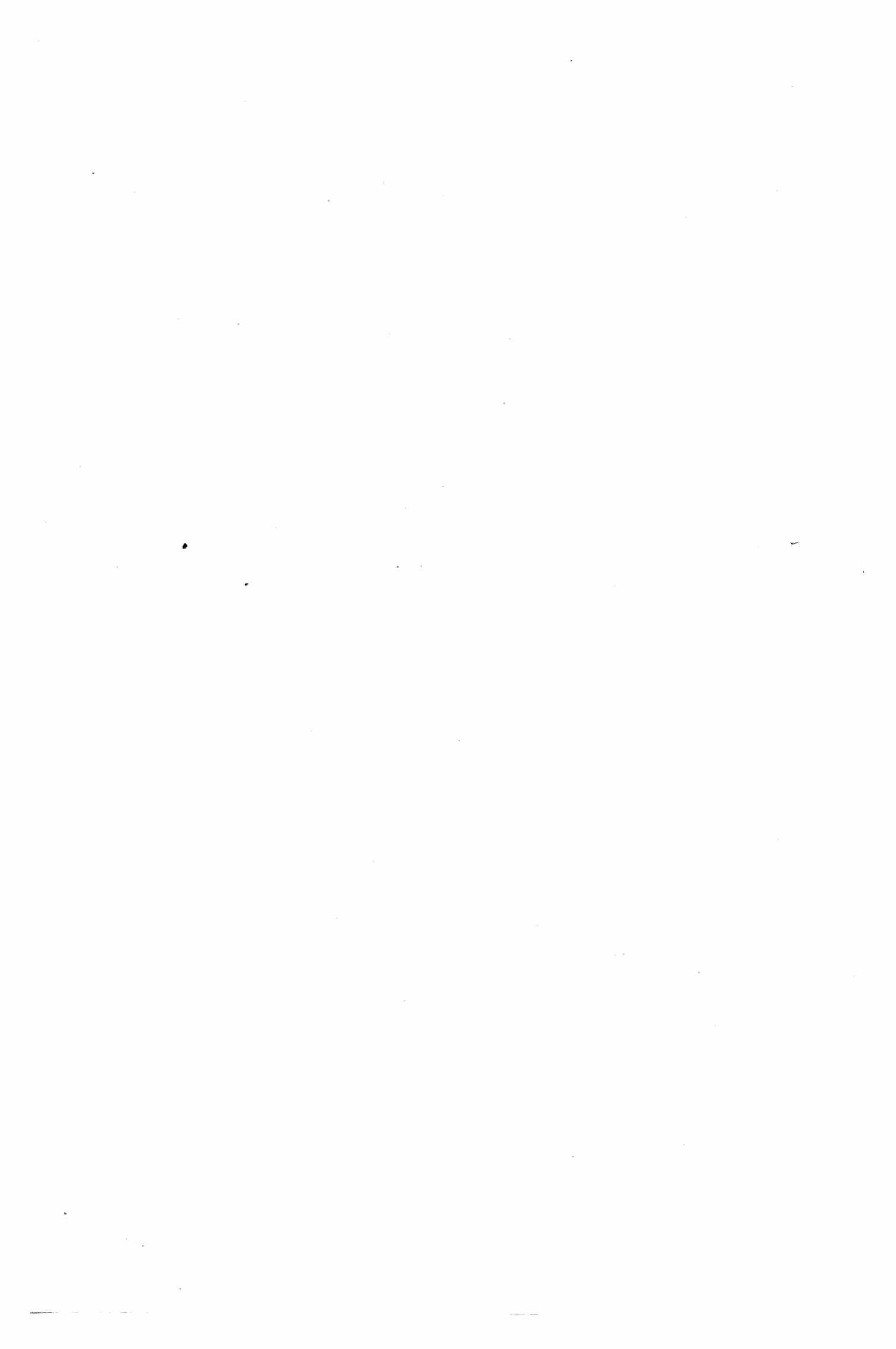


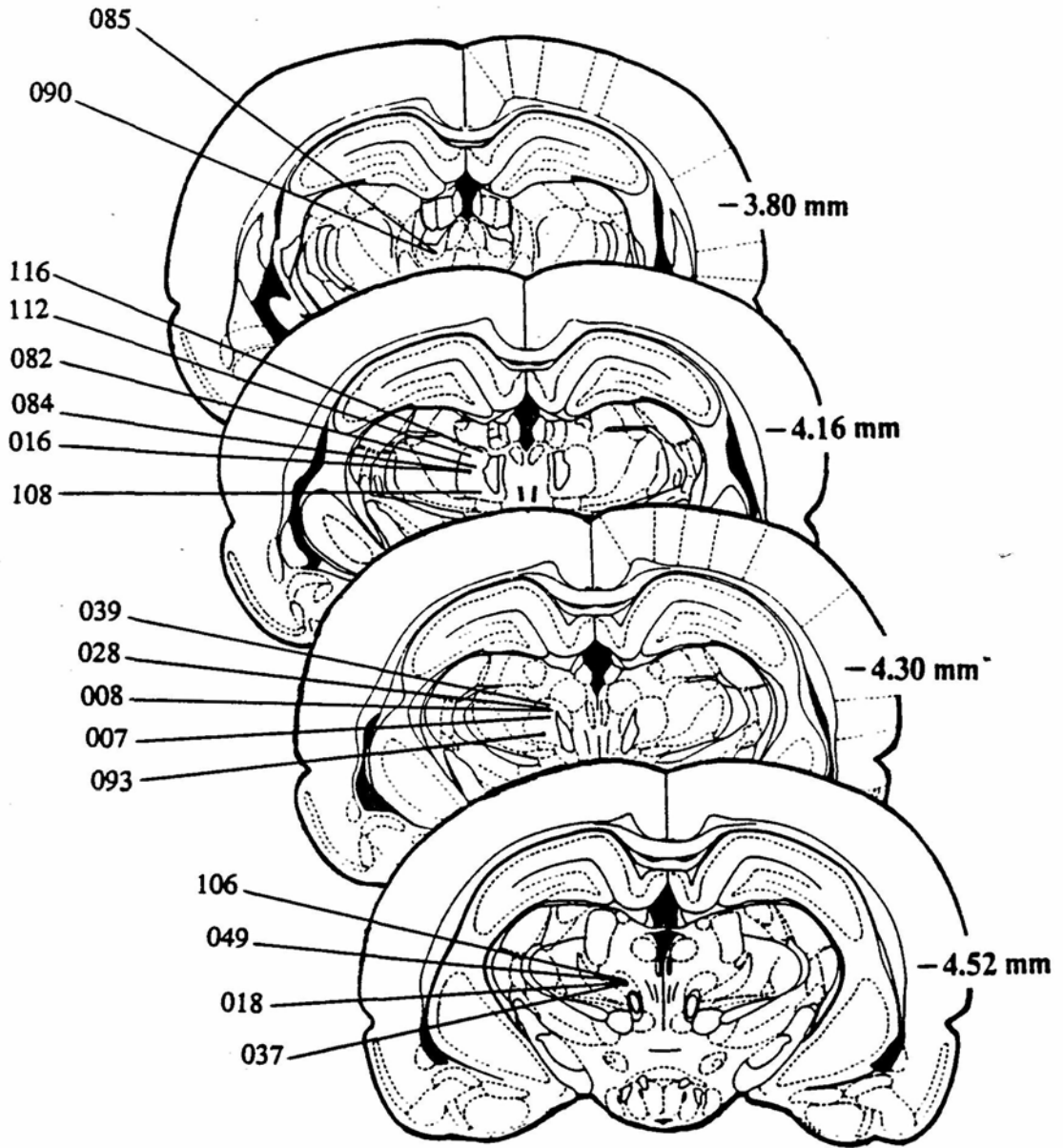
**Figura 4.3,4:** Llocs anatòmics aproximats on es van localitzar les puntes terminals dels elèctrodes en els Ss del grup EIC-10. S'especifiquen les seccions corresponents amb referència a bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).





**Figura 4.3,5:** Llocs anatòmics aproximats on es van localitzar les puntes terminals dels elèctrodes en els Ss del grup EIC-5. S'especifiquen les seccions corresponents amb referència a bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).

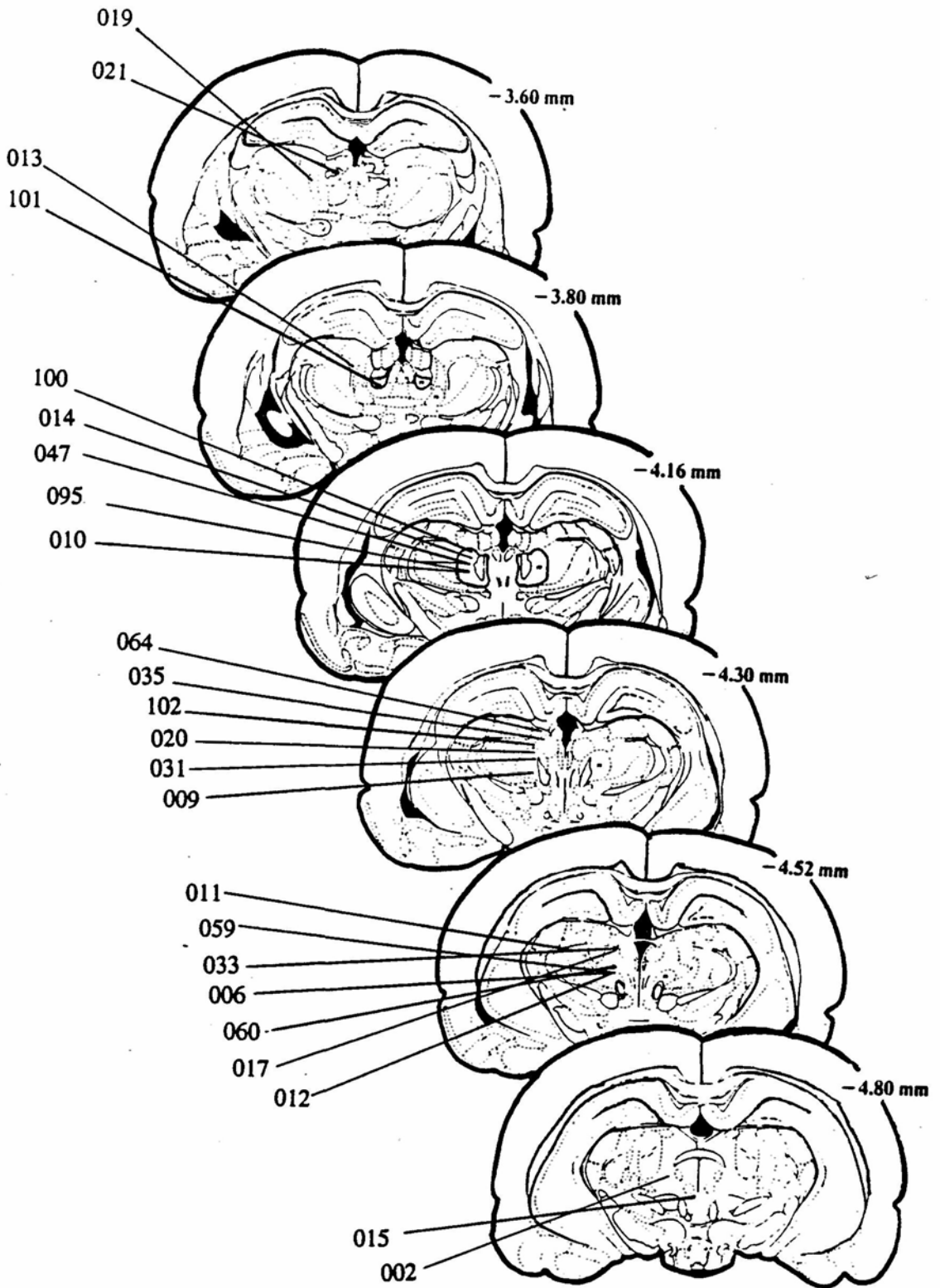




**Figura 4.3,6:** Llocs anatòmics aproximats on es van localitzar les puntes terminals dels elèctrodes en els Ss del grup CONTROL-EIC. S'especifiquen les seccions corresponents amb referència a bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).

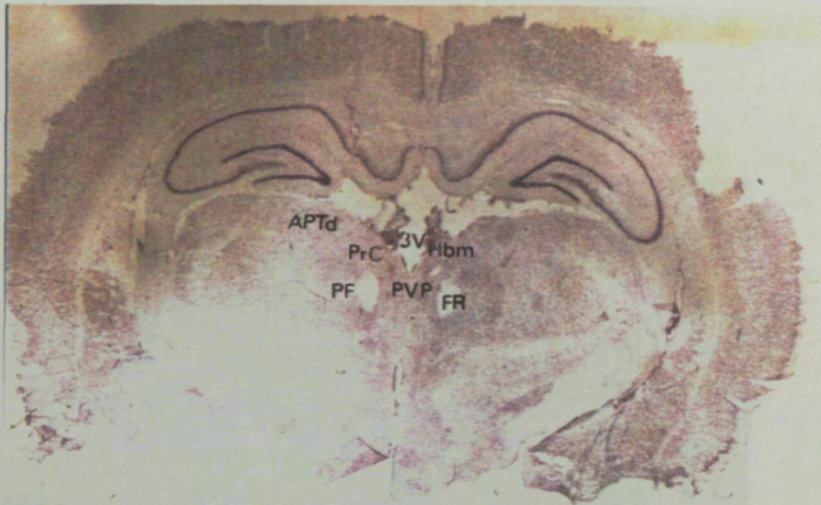
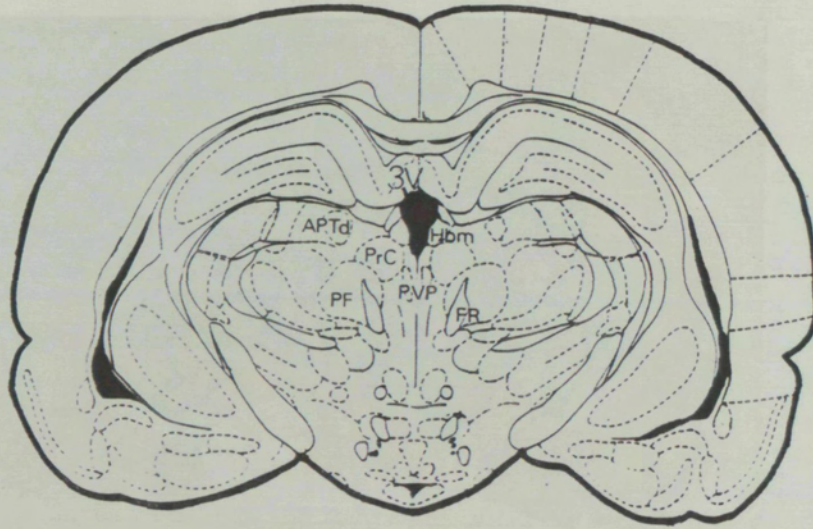






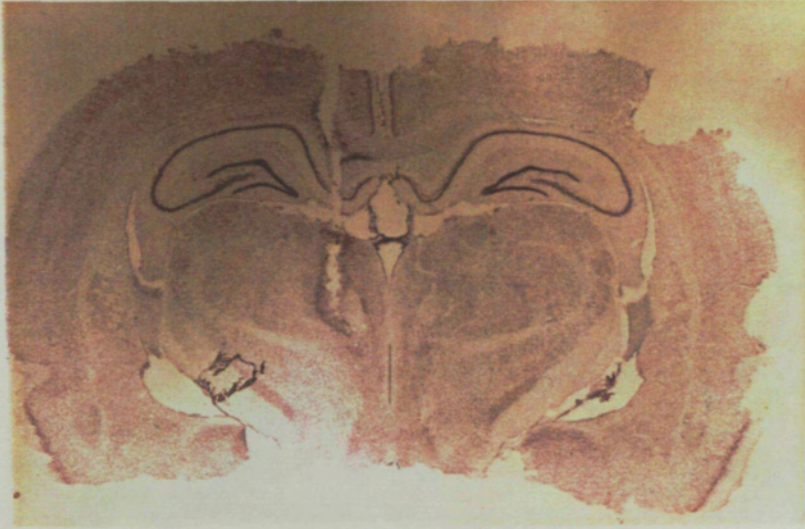
**Figura 4.3,7:** Llocs anatòmics aproximats on es van localitzar les puntes terminals dels elèctrodes en els Ss del grup CONTROL. S'especifiquen les seccions corresponents amb referència a bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986).





**Figura 4.3,8:** Fotografia (a 3 augments) de la secció corresponent a la coordenada  $-4.30\text{mm}$  posterior a bregma, segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986), utilitzada per a la implantació estereotàxica de l'elèctrode. En aquesta figura es mostren les estructures cerebrals que s'han pres com a referència per dur a terme la localització del nucli parafascicular (PF) (3V: tercer ventricle, APTd: nucli anterior pretectal (dorsal), FR: fascicle retroflexus, Hbm: nucli habenular medial, PF: nucli parafascicular, PrC: nucli precomissural, PVP: nucli talàmic paraventricular posterior).





**Figura 4.3,9.** Fotografia (a 3 augments) de la secció corresponent a la coordenada -4.30mm posterior a bregma del cervell del subjecte 048 del grup EIC-10.



**Figura 4.3,10.** Fotografia (a 3 augments) de la secció corresponent a la coordenada -4.16mm posterior a bregma del cervell del subjecte 078 del grup EIC-5.





**Figura 4.3,11.** Fotografia (a 3 augments) de la secció corresponent a la coordenada  $-4.16\text{mm}$  posterior a bregma del cervell del subjecte 112 del grup CONTROL-EIC.



**Figura 4.3,12.** Fotografia (a 3 augments) de la secció corresponent a la coordenada  $-4.52\text{mm}$  posterior a bregma del cervell del subjecte 059 del grup CONTROL.





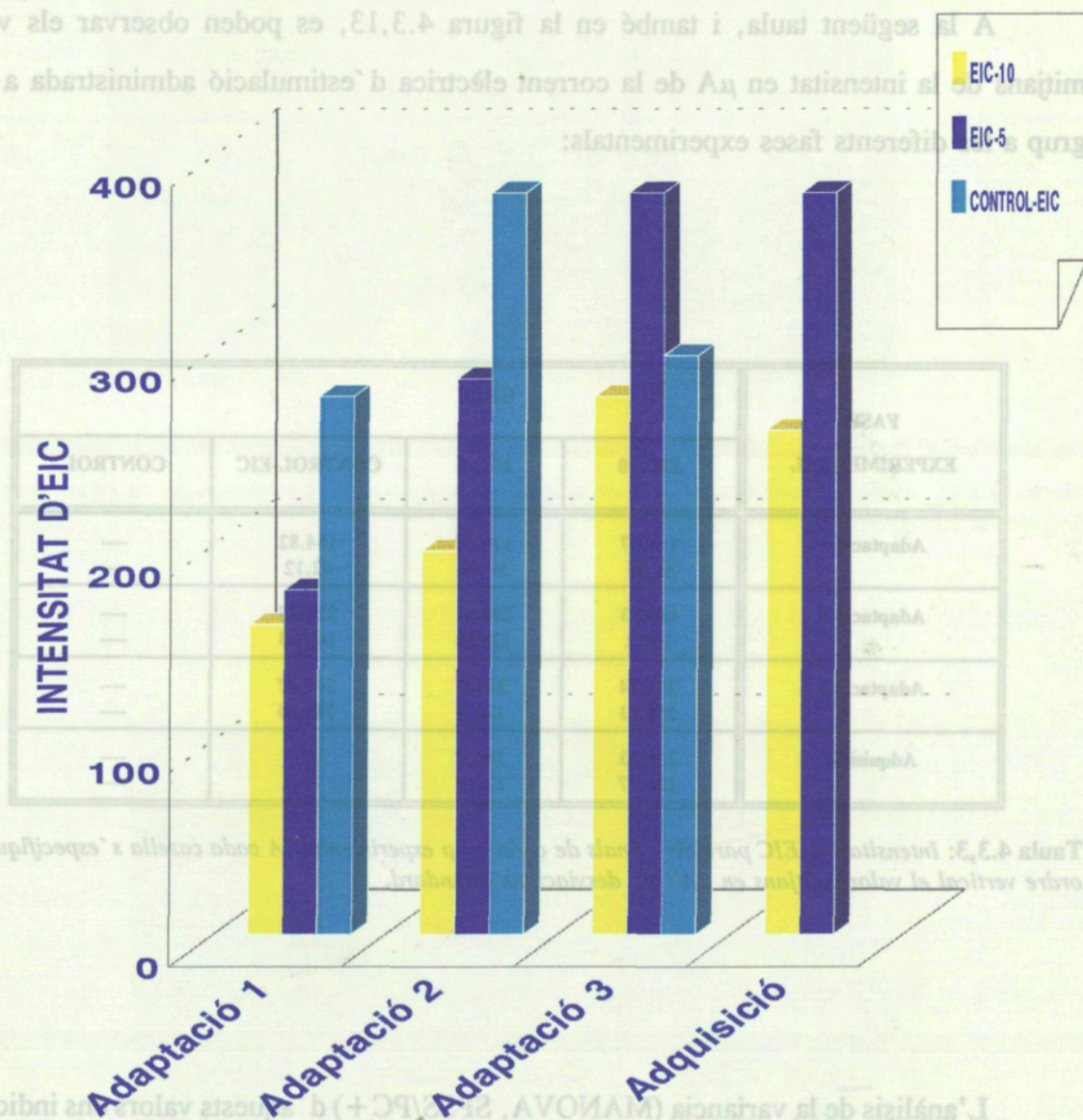
### 4.3.3. Intensitats d'Estimulació Elèctrica Intracranial.

A la següent taula, i també en la figura 4.3,13, es poden observar els valors mitjans de la intensitat en  $\mu A$  de la corrent elèctrica d'estimulació administrada a cada grup a les diferents fases experimentals:

| FASE<br>EXPERIMENTAL | GRUP   |        |             |         |
|----------------------|--------|--------|-------------|---------|
|                      | EIC-10 | EIC-5  | CONTROL-EIC | CONTROL |
| Adaptació 1          | 158.27 | 176.37 | 154.82      | ---     |
|                      | 66.55  | 89.42  | 62.12       | ---     |
| Adaptació 2          | 196.33 | 284.61 | 225.47      | ---     |
|                      | 109.2  | 126.53 | 140.83      | ---     |
| Adaptació 3          | 275.44 | 380.0  | 296.47      | ---     |
|                      | 258.33 | 120.0  | 180.54      | ---     |
| Adquisició           | 258.33 | 380.0  | ---         | ---     |
|                      | 134.77 | 120.0  | ---         | ---     |

Taula 4.3,3: Intensitats d'EIC parcials i finals de cada grup experimental. A cada casella s'especifiquen, en ordre vertical el valors mitjans en  $\mu A$  i les desviacions estàndard.

L'anàlisi de la variància (MANOVA, SPSS/PC+) d'aquests valors ens indica que no hi ha diferències estadísticament significatives entre grups, respecte l'intensitat de corrent rebuda durant les sessions de recerca d'una intensitat de corrent estimulant no convulsiva, ni tampoc durant la fase d'adquisició de l'aprenentatge.



**Figura 4.3.13:** Esquema de les intensitats d'EIC en  $\mu A$  rebudes en les diferents fases experimentals pels grups que van rebre aquest tipus de tractament.

### 4.3.4. Activitat a la Gàbia d'Evitació Activa

La variable activitat es va mesurar com el nombre de carreres entre els dos compartiments de la gàbia d'evitació, per cada subjecte experimental, en dos períodes diferents: 1) A les tres sessions d'adaptació prèvies a la fase d'adquisició, a les quals els subjectes disposaven de 20 minuts de lliure deambulació per a la gàbia d'evitació (vegeu punt 4.3.4.1); i 2) Als intervals entre assaigs (interval variable d'1 minut) de les cinc sessions d'adquisició i de la sessió de RLT (vegeu punt 4.3.4.2).

#### 4.3.4.1. Sessions d'Adaptació

A la taula 4.3,4 es mostren els valors mitjans i les desviacions estàndard del nombre de carreres realitzades a la gàbia d'evitació activa de dos sentits, per a cada grup experimental a cadascuna de les tres sessions de lliure deambulació. Els valors referents a les mitjanes dels grups estan representats en la figura 4.3,14.

| SESSIONS<br>ADAPTACIÓ | GRUP           |                |                 |                | TOTAL          |
|-----------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
|                       | EIC-10         | EIC-5          | CONTROL-<br>EIC | CONTROL        |                |
| Sessió 1              | 72.61<br>15.73 | 83.15<br>17.33 | 70.75<br>14.15  | 69.91<br>18.38 | 73.21<br>17    |
| Sessió 2              | 51.94<br>16.07 | 72<br>22.11    | 56.50<br>25.68  | 49.62<br>16.27 | 55.85<br>20.99 |
| Sessió 3              | 47.11<br>19.67 | 70.84<br>25.32 | 48.93<br>24.94  | 40.41<br>15.56 | 49.60<br>23.04 |

**Taula 4.3,4:** Nombre de carreres entre els dos compartiments de la gàbia d'evitació activa, a cadascuna de les tres sessions d'adaptació, per a cada grup experimental. A cada casella s'especifiquen, en ordre vertical els valors mitjans i les desviacions estàndard.

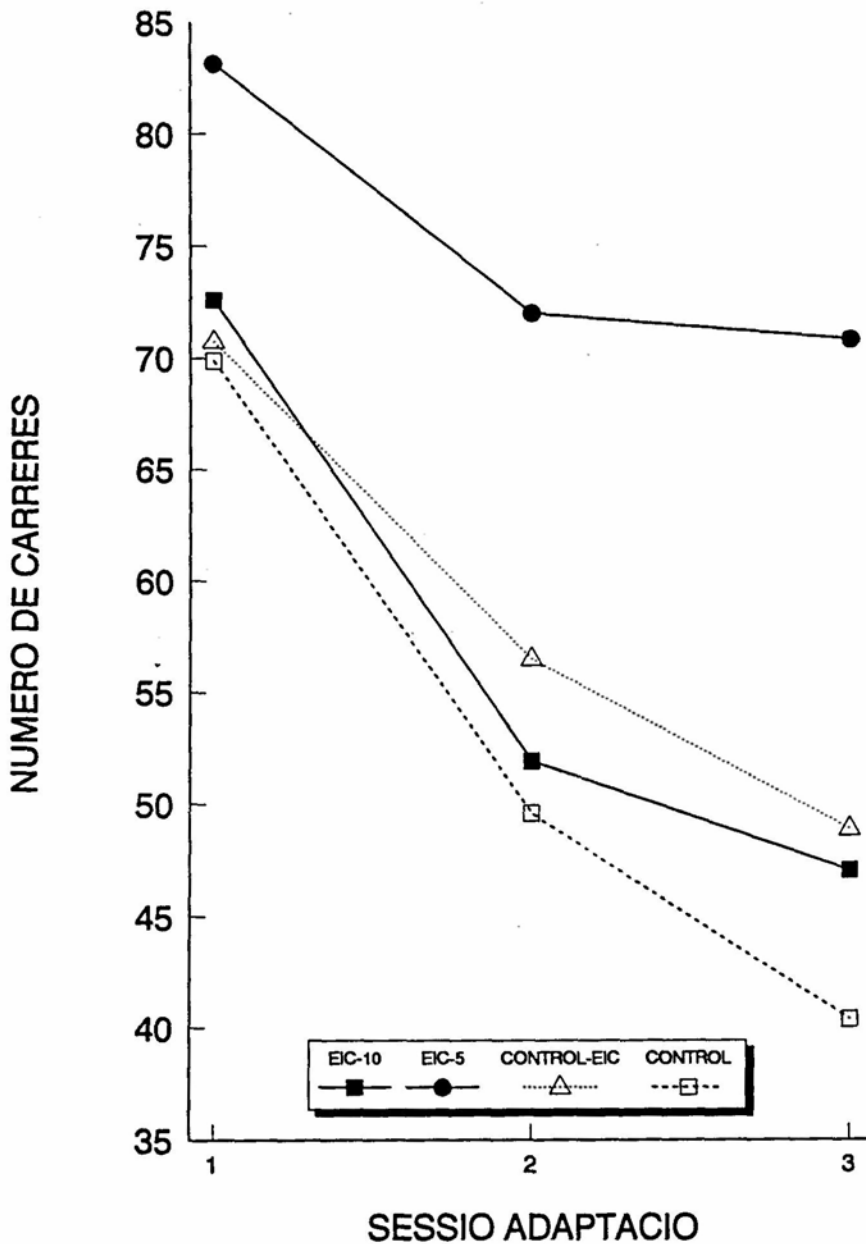


Figura 4.3,14: Número mitjà de carreres entre els dos compartiments de la gàbia d'evitació activa de dos sentits, a cadascuna de les tres sessions d'adaptació, per a cada grup experimental.

A la figura 4.3,14 s'observa que: 1) hi ha una disminució de l'activitat al llarg de les sessions d'adaptació similar per a tots els grups, 2) aquesta disminució és més accentuada entre la primera i la segona sessió d'adaptació per a cadascun dels grups

considerats, i 3) el grup EIC-5 mostra un nivell d'activitat locomotriu basal superior al de la resta de grups. Les dues primeres observacions recolzen la idea que s'ha donat un procés d'adaptació a la gàbia d'evitació activa (shuttle-box), tal com es pretenia.

Tots els grups han seguit el mateix tipus d'evolució al llarg de les tres sessions d'adaptació. Una anàlisi de la variància pel conjunt dels subjectes va confirmar que hi havia una disminució significativa del número de carreres al llarg de les tres sessions d'adaptació [ $F_{(2,67)}=5.31$ ;  $p<0.002$ ], i que aquesta disminució és igual per a tots els grups ja que el factor "grup per sessió" no es significatiu. En estudiar més detalladament aquesta disminució per a cada grup individual, es pot comprovar l'existència d'una evolució linial significativa descendent corresponent a una funció quadràtica (equació de segon grau) en tots els grups. És a dir, els 4 grups presenten una marcada disminució entre la primera i segona sessió de la fase d'adaptació, però tendeixen a un manteniment del número de carreres entre la segona i la tercera sessió.

L'anàlisi estadística ha posat de manifest l'existència de diferències significatives pel que fa als valors mitjans de carreres durant cada sessió d'adaptació a la gàbia de condicionament entre els diferents grups, ja que el factor "grup" resulta significatiu (MANOVA, [ $F_{(3,67)}=5.52$   $p<0.02$ ]). Una anàlisi més acurada comparant els grups entre si en cada sessió ens aclareix que aquesta significació ve donada per la diferència d'activitat locomotriu basal dels grup EIC-5 respecte la resta de grups. Així doncs, en la primera sessió d'adaptació, quan els grups encara no han rebut cap tipus de tractament diferenciador entre ells, el grup EIC-5 ja té un índex superior d'activitat dins la gàbia de evitació respecte del grup CONTROL-EIC [Contrast *Simple*:  $F_{(1,67)}=3.98$ ;  $p<0.050$ ] i respecte del grup CONTROL [Contrast *Simple*:  $F_{(1,67)}=5.32$ ;  $p<0.024$ ]. En la segona sessió a part de mantenir les diferències amb el grup CONTROL-EIC [Contrast *Simple*:  $F_{(1,67)}=4.40$ ;  $p<0.040$ ] i amb el grup CONTROL [Contrast *Simple*:  $F_{(1,67)}=10.78$ ;  $p<0.002$ ], també les estableix amb el grup EIC-10 [Contrast *Simple*:  $F_{(1,67)}=7.75$ ;  $p<0.007$ ]. En la tercera sessió d'adaptació el grup EIC-5 també es diferencia

### Experiment 1

significativament respecte del grup EIC-10 [Contrast Simple:  $F_{(1,67)}=9.76$ ;  $p<0.003$ ], del grup CONTROL-EIC [Contrast Simple:  $F_{(1,67)}=7.91$ ;  $p<0.006$ ] i del grup CONTROL [Contrast Simple:  $F_{(1,67)}=17.93$ ;  $p<0.001$ ].

#### 4.3.4.2. Sessions d'Adquisició i Retenció de l'Aprenentatge.

A la taula 4.3,5 s'especifiquen els valors mitjans i les desviacions estàndard del número de carreres entre assaig per cada un dels grups experimentals a cadascuna de les sessions d'adquisició i a la sessió de RLT. Aquests valors es representen també en la figura 4.3,15.

| SESSIÓ<br>APRENTATGE | GRUP           |                |               |                | TOTAL          |
|----------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|
|                      | EIC-10         | EIC-5          | CTROL-<br>EIC | CTROL          |                |
| Adquisició 1         | 17.72<br>6.98  | 13.76<br>7.80  | 12.11<br>3.31 | 13.08<br>7.51  | 14.13<br>7.33  |
| Adquisició 2         | 16.44<br>7.79  | 12.46<br>6.87  | 12.35<br>8.72 | 11.04<br>8.05  | 12.95<br>8.07  |
| Adquisició 3         | 14.16<br>8.84  | 12<br>5.95     | 10.35<br>6.86 | 10.33<br>5.91  | 11.59<br>7.02  |
| Adquisició 4         | 16.27<br>9.73  | 10.38<br>5.26  | 10.76<br>7.88 | 8.95<br>7.45   | 11.47<br>8.22  |
| Adquisició 5         | 16.72<br>11.89 | 12.07<br>7.61  | 9.94<br>7.69  | 7.66<br>4.62   | 11.26<br>8.74  |
| RLT-10 dies          | 20.61<br>14.59 | 13.76<br>15.61 | 14.23<br>9.25 | 14.12<br>10.51 | 15.70<br>12.46 |

**Taula 4.3,5:** Nombre de carreres entre assaig en cadascuna de les sessions d'adquisició i de RLT de l'aprenentatge, per cada grup experimental. A cada casella s'especifiquen, en ordre vertical, els valors mitjans i les desviacions estàndard.

En aquest cas també s'observa l'existència de diferències en el número de carreres en les diferents sessions; però l'anàlisi de la variancia (MANOVA, SPSS/PC+) ha mostrat que aquestes diferències no són estadísticament significatives, ja que ni el factor "grup" ni la interacció "grup per Sessió" donen la significació.

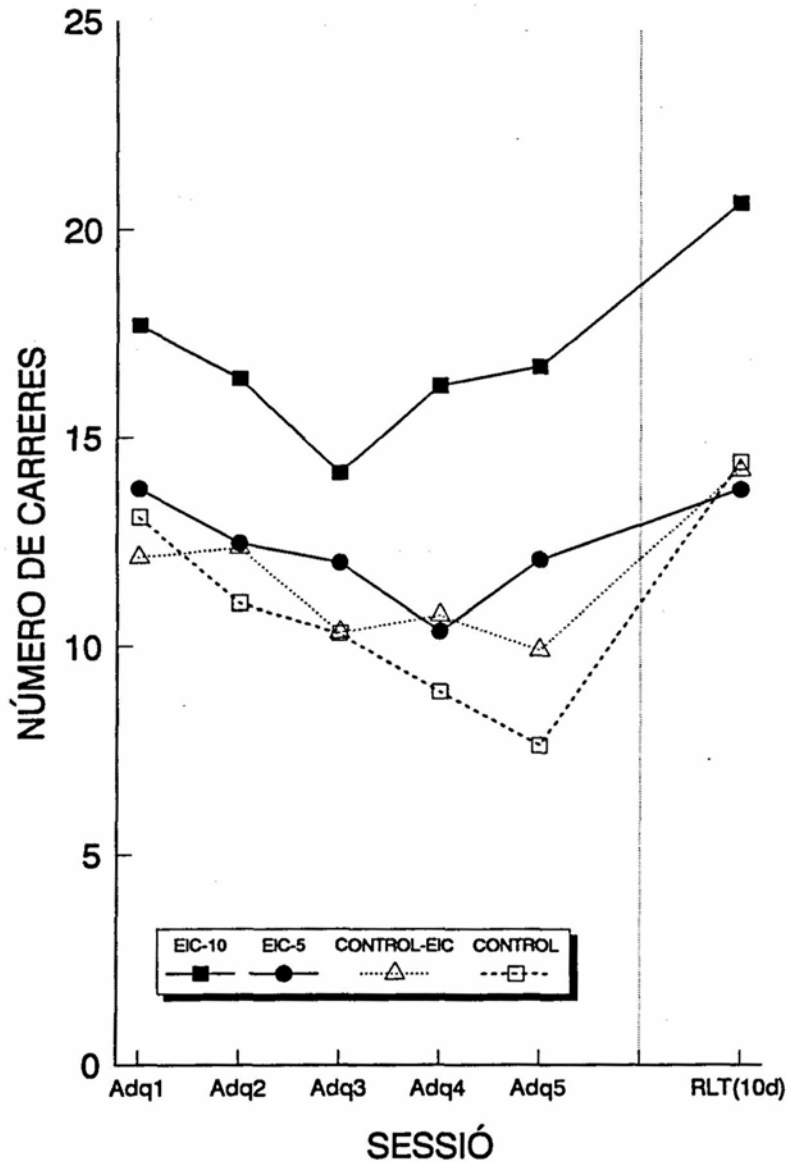


Figura 4.3,15: Evolució del nombre mitjà de carreres entre assaigs, realitzades pels Ss de cada grup experimental al llarg de les 5 sessions d'adquisició i de la sessió de RLT del condicionament d'EV2.



### Experiment I

On sí es donen globalment diferències significatives entre grups, és a les sessions d'adquisició 4 i 5 (MANOVA, *Adquisició 4*: $[F_{(3,68)}=3.18, p<0.029]$ ; *Adquisició 5*: $[F_{(3,68)}=4.42, p<0.007]$ ). Una anàlisi de contrastos ha posat de manifest que el grup EIC-10 mostra un nombre significativament major de carreres que el grup EIC-5, el grup CONTROL-EIC i el grup CONTROL durant la sessió 4 de l'adquisició i que el grup CONTROL-EIC i el grup CONTROL en l'última sessió d'adquisició (*Sessió 4*: EIC-10/EIC-5:  $[F_{(1,68)}=4.23, p<0.044]$ , EIC-10/Control-EIC:  $[F_{(1,68)}=4.29, p<0.042]$ , EIC-10/CONTROL:  $[F_{(1,68)}=8.89, p<0.004]$ ; *Sessió 5*: EIC-10/CONTROL-EIC:  $[F_{(1,68)}=6.02, p<0.017]$ , EIC-10/CONTROL:  $[F_{(1,68)}=12.64, p<0.001]$ ).

L'evolució de l'activitat entre assaigs al llarg de les sessions experimentals, és significativa, és a dir, que l'activitat varia a les diferents sessions  $[F_{(3,68)}=3.96; p<0.012]$ . Ara bé, aquesta evolució no és linial, sinó que mostra varies fluctuacions. Concretament, s'observa una disminució a les tres primeres sessions per tornar a incrementar, aproximadament, entre la tercera i quarta sessió d'adquisició. Aquesta evolució s'ajusta bàsicament a una corba de 2<sup>on</sup> grau o funció quadràtica [Contrast *Polynomial*:  $F_{(1,68)}=13.65, p<0.001]$  i de 3<sup>er</sup> grau o funció cúbica [*Polynomial*:  $F_{(1,68)}=4.19, p<0.44]$ .